



Ana Isabel Lourenço Arruda

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Automatização da medição do volume do hipocampo em doentes de Alzheimer

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Mário Forjaz Secca, Professor Associado FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Adelaide de Almeida Pedro de Jesus
Arguente: Prof. Doutora Carla Maria Quintão Pereira
Vogal: Prof. Doutor Mário António Basto Forjaz Secca



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Novembro 2012



Ana Isabel Lourenço Arruda

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Departamento de Física

Automatização da medição do volume do hipocampo em doentes de Alzheimer

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

A presente dissertação foi desenvolvida com a colaboração da clínica de Ressonância Magnética de Caselas.

Orientador: Professor Doutor Mário Forjaz Secca

Copyright

Copyright©2012 – Todos os direitos reservados. Ana Isabel Lourenço Arruda. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Dedico esta dissertação aos meus avós:
Víctor, Olinda, Álvaro e Hortência

Ao longo de todos os anos que passei na Faculdade de Ciências e Tecnologia foram imensas as pessoas que me ajudaram, não só professores, mas também colegas.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Mário Forjaz Secca pela sua dedicação, compreensão e apoio, os quais se revelaram fundamentais na concretização deste projecto.

Também gostaria de exprimir a minha gratidão aos profissionais da Clínica de Caselas por todo o fornecimento de dados indispensáveis ao meu trabalho.

À Professora Cláudia Quaresma agradeço igualmente toda a disponibilidade e ajuda prestadas.

À Dra. Júlia Murta um sincero reconhecimento por se ter mostrado sempre tão presente ao longo destes meses.

Ao Dário Rodrigues queria manifestar todo o meu agradecimento pelo seu incentivo e amizade.

Aos meus amigos, todo o meu profundo reconhecimento pelo carinho, amizade e preocupação demonstrados ao longo deste percurso. Em especial, à Sara Gil e ao Hugo Pereira por terem estado sempre presentes nos principais momentos.

À minha família um muito obrigada por toda a força transmitida.

Ao meu irmão Pedro, queria agradecer a receptividade e boa disposição manifestadas.

Aos meus pais Maria José e Nuno, gostaria de expressar todo o meu agradecimento, pela sua paciência, entrega, carinho e apoio incondicional em todas as fases da minha vida.

Aquilo que sou hoje a todos o devo. Obrigada.

Entre as mais variadas doenças neurológicas estudadas pela Ressonância Magnética, existe uma, em particular, com grande interesse – a doença de Alzheimer. Devido ao aumento da longevidade da população, esta doença tem despertado uma grande atenção por parte dos especialistas devido à sua complexidade e ao número galopante de casos que têm surgido nos últimos anos.

Através da imagem de Ressonância Magnética, as variações de volume do hipocampo têm sido cada vez mais apontadas como um possível marcador na elaboração de um diagnóstico precoce da doença de Alzheimer. Na maior parte dos casos essas modificações do volume do hipocampo são estudadas através de uma segmentação manual. Como este método é muito moroso surge a necessidade de haver uma segmentação automática. Assim, nesta dissertação de mestrado propõe-se a comparação de medições volumétricas obtidas manualmente pelos médicos da Clínica de Caselas com as medições volumétricas obtidas por segmentação automática das imagens adquiridas por Ressonância Magnética, através de um módulo de processamento existente no *software FSL e Freesurfer*.

Este estudo tinha como objectivo validar a automatização da medida do volume do hipocampo para que no futuro fosse possível adoptá-lo como um método auxiliar de pré-diagnóstico mais rápido e eficaz.

No entanto, através das comparações efectuadas, verifica-se uma sobrestimação dos valores medidos automaticamente face aos manuais. Por isso, não é completamente fiável a utilização da segmentação automática.

Among the various neurological disorders studied by Magnetic Resonance there is one, with special interest – the Alzheimer's Disease. This one has aroused a great attention from experts because of its complexity and the increasingly number of cases which emerged in the last years, due to the long-term life population's growth.

Changes in hippocampal volume have been mentioned as a possible hallmark in the detection of an early stage of the disease through Magnetic Resonance Imaging. In most cases these variations are studied through a manual segmentation. As this is a slow method an automatic segmentation is needed. So, in this Master's thesis we propose to compare the volumetric measurements obtained manually by Caselas' physicians with volumetric measurements obtained by automatic segmentation of images acquired by MR using a processing module available in *FSL* and *Freesurfer* software.

This study aimed to validate the automated measurement of hippocampal volume so that in the future it could be adopted as an auxiliary method of a quicker and more efficient prediagnosis.

However, through the comparisons made, there is an overestimation of values automatically measured when compared to the manual ones. So, the automatic segmentation is not completely trustful.

Índice de Figuras.....	xvii
Acrónimos.....	xix
Capítulo 1	1
Introdução.....	1
1.1 Enquadramento da dissertação.....	1
1.2 Estrutura da dissertação.....	2
Capítulo 2	3
Anatomia e Fisiologia Cerebral.....	3
2.1 O cérebro.....	3
2.2 O hipocampo	4
Capítulo 3	7
A doença de Alzheimer.....	7
3.1 Fisiopatologia da Doença de Alzheimer	7
3.1.1 Patogénese	7
3.1.2 Neuropatologia	8
3.2 Sintomas.....	9
3.3 Diagnóstico.....	10
3.4 Tratamento	10
Capítulo 4	13
Imagem por Ressonância Magnética	13
4.1 Fundamentos Gerais	13
4.1.1 <i>Spin</i> Nuclear	13
4.1.2 Precessão.....	14
4.1.3 Magnetização	14
4.1.4 Ressonância.....	14
4.2 A origem do sinal.....	15
4.3 Processos de relaxação	15
4.3.1 Relaxação longitudinal – T1	15
4.3.2 Relaxação transversal – T2.....	16
4.4 Contraste	16
4.5 Volume Parcial	17
Capítulo 5	19
Metodologia	19
5.1 Protocolo de Alzheimer	19
5.2 Segmentação manual.....	20
5.3 Segmentação automática.....	21

5.3.1	<i>Freesurfer</i>	22
5.3.2	<i>FSL</i>	24
5.4	Comparação entre métodos	25
Capítulo 6		27
Apresentação e Discussão de Resultados		27
6.1	Clínico 1 e <i>FSL</i>	27
6.1.1	1ª Fase	27
6.1.2	2ª Fase	29
6.1.3	Comparação entre fases	30
6.2	Clínico 2 e <i>FSL</i>	31
6.2.1	1ª Fase	31
6.2.2	2ª Fase	32
6.3	Comparação entre fases	33
6.4	Clínico 3, <i>FSL</i> e <i>Freesurfer</i>	34
6.4.1	Correlação: Manual – <i>FSL</i> e Manual – <i>Freesurfer</i>	34
6.4.2	<i>Bland-Altman</i> : Manual – <i>FSL</i> e Manual – <i>Freesurfer</i>	36
6.4.3	Comparação entre medições	37
6.5	<i>FSL</i> : Comparação entre grupos	38
Capítulo 7		41
Conclusões		41
7.1	Limitações do Estudo	42
7.2	Perspectivas Futuras	42
Bibliografia		43
Apêndice I		47
Apêndice II		49
Apêndice III		53

Figura 2.1 – Imagem do cérebro tendo em conta os lobos principais. Adaptado de [13].	4
Figura 2.2 – Na imagem superior, o sistema límbico representado a verde e a azul. Na imagem inferior, o hipocampo. Adaptado de [14].	5
Figura 2.3 - Imagem dos principais constituintes do hipocampo. Adaptado de [16].	5
Figura 3.1 – Cérebro dividido em duas secções, com representações macroscópicas e microscópicas. A: Cérebro normal. B: Cérebro com a doença de Alzheimer. Adaptado de [28].	8
Figura 3.2 – Progressão da doença de Alzheimer. A: Cérebro Saudável. B: Cérebro que apresenta um ligeiro comprometimento cognitivo (MCI). C: Cérebro num estado muito severo. Adaptado de [31].	9
Figura 3.3 – Efeito previsto perante um tratamento tardio face a uma intervenção precoce na doença de Alzheimer. As terapêuticas existentes apenas atenuam a curva do declínio cognitivo fazendo com que esta não seja tão acentuada. Adaptado de [20].	11
Figura 4.1 - Diferentes mecanismos de contraste foram utilizados para criar imagens de RM ponderadas em T1 (esquerda), T2 (meio) e por densidade protónica (direita). Os diferentes resultados na diferenciação de tecidos moles resulta da escolha do método de imagem. Adaptado de [43].	17
Figura 5.1 – Exemplo de uma imagem de RM com a segmentação manual do hipocampo, esquerdo e direito, efectuada por um médico no plano coronal.	21
Figura 5.2 – Imagem da <i>brainmask.mgz</i> obtida através do <i>tkmedit</i> (Apêndice II). A linha vermelha representa a superfície da pia-máter, a linha amarela delimita a matéria branca e as restantes cores representam a segmentação subcortical. Os hipocampus encontram-se a amarelo.	23
Figura 5.3 – Interface do <i>FSL</i> .	24
Figura 5.4 – Interface do <i>FSL</i> , <i>fslview</i> , que mostra as estruturas pretendidas segmentadas nos diferentes planos. Neste caso o hipocampo direito e o esquerdo, a amarelo.	25
Figura 6.1 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 1 e o <i>FSL</i> .	28
Figura 6.2 – Gráfico que traduz a variação percentual do <i>FSL</i> em relação ao clínico 1.	28
Figura 6.3 – Gráfico que traduz a variação do <i>FSL</i> em relação ao clínico 1, durante a segunda fase de medições.	29
Figura 6.4 – Gráfico que traduz a variação do <i>FSL</i> em relação ao clínico 1, durante a segunda fase de medições.	30
Figura 6.5 – Gráfico de barras que traduz a média da variação entre o clínico 1 e o <i>FSL</i> em ambas as fases.	30
Figura 6.6 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 2 e o <i>FSL</i> .	31
Figura 6.7 – Gráfico que traduz a variação percentual do <i>FSL</i> em relação ao clínico 2.	32
Figura 6.8 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 2 e o <i>FSL</i> .	32
Figura 6.9 – Gráfico que traduz a variação do <i>FSL</i> em relação ao clínico 2.	33
Figura 6.10 – Gráfico de barras que traduz a média da variação entre o clínico 2 e o <i>FSL</i> em ambas as fases.	33
Figura 6.11 – Gráfico que traduz a correlação entre o <i>FSL</i> e o clínico 3.	35
Figura 6.12 – Gráfico que traduz a correlação entre o <i>Freesurfer</i> e o clínico 3.	35

Figura 6.13 – Gráfico <i>Bland-Altman</i> que mostra a média da diferença de volumes entre o método manual e o <i>FSL</i> e os limites de concordância representados a tracejado.	36
Figura 6.14 - Gráfico <i>Bland-Altman</i> que mostra a média da diferença de volumes entre o método manual e o <i>Freesurfer</i> e os limites de concordância representados a tracejado.	36
Figura 6.15 – Gráfico de barras que traduz a variação percentual entre métodos de uma medição para a outra.	37
Figura 6.16 – Comparação da média de volumes de cada grupo da primeira fase para a segunda. Comparação da média de volumes entre cada grupo.....	38

DA – Doença de Alzheimer

DICOM – *Digital Imaging and Communications in Medicine*

FSL – *FMRIB Software Library*

IRM – Imagem por Ressonância Magnética

LCR – Líquido cefalorraquidiano

MCI – *Mild Cognitive Impairment*

NIFTI – *Neuroimaging Informatics Technology Initiative*

RF – Radiofrequência

RM – Ressonância Magnética

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SE – *Spin Echo*

TE – Tempo de Eco

TR – Tempo de Repetição

Capítulo 1

Introdução

1.1 Enquadramento da dissertação

A doença de Alzheimer é das causas mais comuns de demência [1]. É uma doença neurodegenerativa de progressão lenta que acaba por ser devastadora afectando milhões de pessoas a nível mundial [2, 3]. O dramático aumento da longevidade no último século fez com que houvesse um número crescente de indivíduos a atingir a idade em que as doenças neurodegenerativas são mais comuns [4].

A doença de Alzheimer é conhecida pela sua complexidade e caracterizada pela acumulação de placas amilóides e de tranças neurofibrilares que estão associadas à perda sináptica e à degeneração neurológica, conduzindo a um comprometimento da memória e a outros problemas cognitivos [1].

Inúmeros progressos têm sido feitos na tentativa de desvendar o mistério da doença de Alzheimer. No entanto, continua sem se compreender o mecanismo que desencadeia todos os eventos neurobiológicos [2]. A hipótese da cascata amilóide, que defende que a deposição de proteína beta-amiloide é o evento principal na doença de Alzheimer, tem dominado a pesquisa nos últimos vinte anos [5]. No entanto, torna-se cada vez mais evidente que a doença de Alzheimer é na realidade um síndrome multifactorial em vez de uma doença singular [6].

Apesar de toda a investigação clínica, nas últimas três décadas continua a não haver um tratamento eficaz que trave o aparecimento e a progressão desta doença [7].

Uma consequência macroscópica da patologia de Alzheimer é a atrofia do cérebro [3]. Esta por sua vez encontra-se mais acentuada no hipocampo, razão pela qual tem sido apontado como um possível marcador na elaboração de um diagnóstico precoce [8]. No entanto, uma determinação mais precisa e eficiente desta estrutura continua a ser um desafio [9].

Estudos de imagem que investigam o hipocampo têm utilizado tradicionalmente a segmentação manual para medir esta estrutura, a qual tem sido o método preferencial na maior parte dos casos. A segmentação manual permite uma delineação precisa das fronteiras do hipocampo, mas para a efectuar é necessário um treino especializado e de referência das regiões anatómicas. Este método é tedioso, demorado, necessita de muitos recursos e está propenso a erros humanos. Estas limitações tornam-se particularmente relevantes quando se pretende estudar uma amostra de grandes dimensões, surgindo assim a necessidade de uma segmentação automática [8, 10].

Por essa razão procedeu-se à comparação das medidas automáticas – obtidas através do *FSL* e do *Freesurfer* – com as manuais com o intuito de se compreender se é possível validar a segmentação automática como um método auxiliar de pré-diagnóstico.

Através das comparações entre métodos, verifica-se que existe uma sobrestimação dos valores automáticos relativamente aos manuais. Desta forma, não é completamente fiável uma segmentação automática.

1.2 Estrutura da dissertação

Por forma a dar um encadeamento lógico a este estudo, decidiu-se iniciá-lo com uma breve descrição do cérebro dando especial relevância ao hipocampo. Esta primeira abordagem ao tema da presente dissertação encontra-se no capítulo 2.

No capítulo 3 são descritos alguns aspectos gerais sobre a doença de Alzheimer, tais como a fisiopatologia da doença, sintomas, diagnóstico e tratamento.

Seguidamente, no capítulo 4 é feita uma introdução à técnica de Imagem por Ressonância Magnética, incluindo os fundamentos gerais e os processos até à aquisição de imagens.

No capítulo 5 são referidos todos os métodos utilizados até à obtenção dos resultados, que serão posteriormente apresentados e discutidos no capítulo 6.

Por último, no capítulo 7 constam as conclusões do estudo efectuado, as suas limitações e perspectivas futuras.

Capítulo 2

Anatomia e Fisiologia Cerebral

O sistema nervoso tem como função receber informação de receptores, processar a informação procurando uma resposta adequada e emitir comandos para as células e órgãos. O sistema nervoso divide-se em dois grande grupos: o sistema nervoso central e o sistema nervoso periférico [11].

O sistema nervoso central é formado pelo encéfalo e pela medula espinhal que se encontram protegidos pelo crânio e pela coluna vertebral. O encéfalo é constituído pelo cérebro – porção mais volumosa que ocupa grande parte da cavidade craniana -, pelo cerebelo e pelo bolbo raquidiano [11, 12].

Do sistema nervoso periférico faz parte todo o sistema nervoso – nervos e gânglios nervosos – à excepção do cérebro e da medula espinhal [11].

2.1 O cérebro

O cérebro é o principal órgão do sistema nevoso central onde se integram e elaboram as grandes funções motoras, sensitivas e associativas do sistema nervoso. Este pode ser dividido numa porção mediana, o diencéfalo e em duas partes laterais, o telencéfalo [12] .

Respeitante à forma, o cérebro assemelha-se a um ovóide que vai variando consoante os tipos de cérebro. Nos braquicéfalos a forma é redonda e nos doliocéfalos tem a forma de um ovóide alongado [12].

O crânio e as meninges cranianas envolvem e protegem o cérebro. Aquelas são constituídas pela duramáter – a estrutura mais superficial -, pela aracnóideia – a estrutura do meio – e pela piamáter – a mais interior. Também o líquido cefalorraquidiano (LCR) tem como função proteger o cérebro contra agressões químicas e físicas. O LCR circula continuamente pelas cavidades presentes no cérebro e entre o espaço existente entre a aracnóideia e a piamáter [12, 13].

O cérebro é composto pela substância branca e pela substância cinzenta. Esta última, onde ocorrem as sinapses, forma uma camada mais superficial por cima do cérebro – córtex cerebral – e massas mais profundas chamadas de núcleos. O córtex cerebral e os núcleos encontram-se separados pela substância branca [11].

Existem inúmeras subdivisões anatómicas para o cérebro. As mais evidentes são os hemisférios cerebrais, as circunvoluções e os sulcos. Para além destas existem outros pontos de referência que ajudam a dividir o cérebro em quatro partes: os lobos occipital, parietal, temporal e frontal [14] (Figura 2.1).

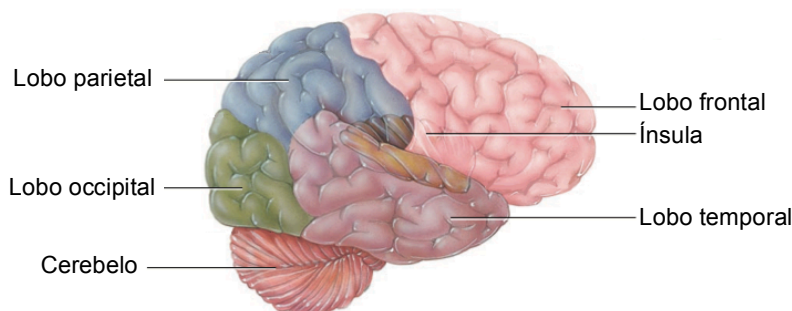


Figura 2.1 – Imagem do cérebro tendo em conta os lobos principais. Adaptado de [13].

2.2 O hipocampo

O sistema límbico está relacionado com a parte emocional, olfactiva e cognitiva de um indivíduo. O termo sistema límbico ou lobo límbico refere-se a uma parte do cérebro referente a um anel de tecido cortical à volta do corpo caloso e de um grupo de estruturas internas associadas [11, 13, 15] (Figura 2.2). Da sua constituição fazem parte núcleos designados por amígdala e hipocampo, que se encontram no lado médio do lobo temporal, um tracto designado por fórnix que leva aos corpos mamilares do hipotálamo e umas dobras do cérebro que se estendem ao longo do corpo caloso designadas por circunvoluções do corpo caloso [11].

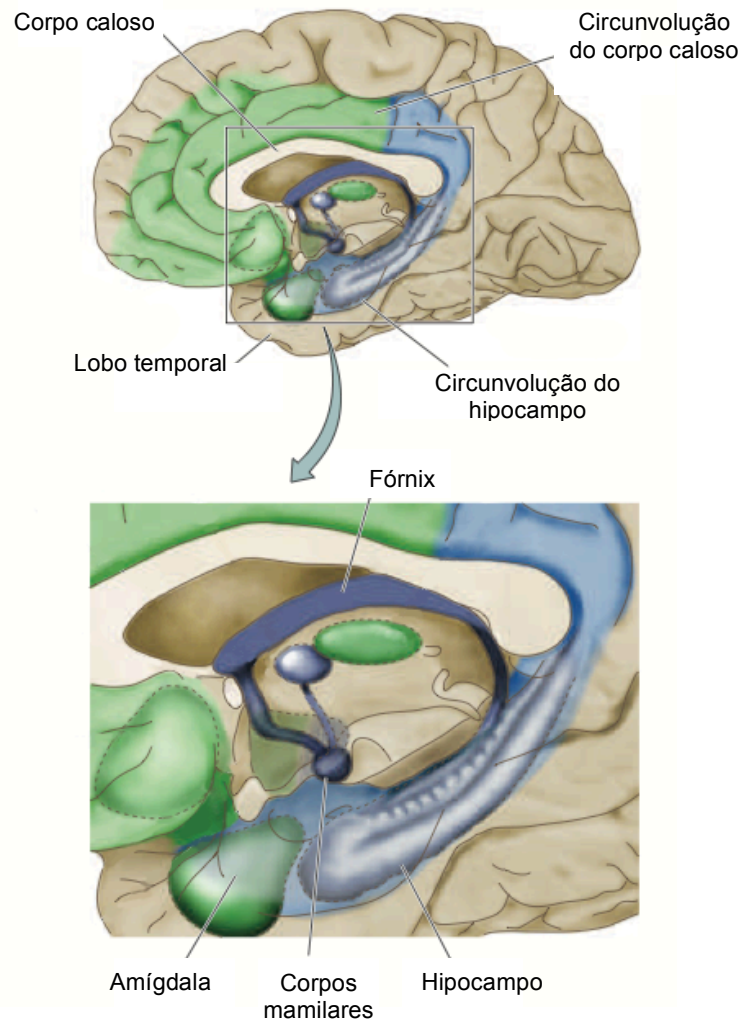


Figura 2.2 – Na imagem superior, o sistema límbico representado a verde e a azul. Na imagem inferior, o hipocampo. Adaptado de [14].

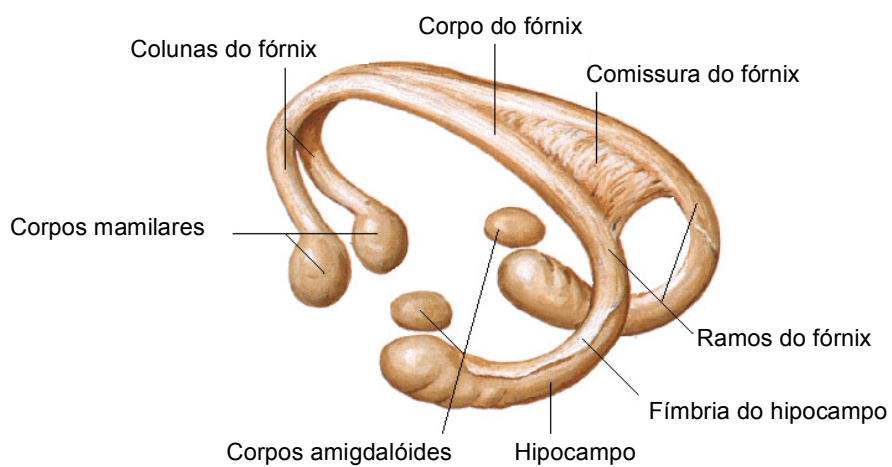


Figura 2.3 - Imagem dos principais constituintes do hipocampo. Adaptado de [16].

O hipocampo (Figura 2.3) é uma das mais complexas e vulneráveis estruturas cerebrais e pensa-se que esteja relacionada com a consolidação de memórias de curto prazo em longo prazo [11, 17]. Como tal, danos no hipocampo podem originar amnésia anterógrada caracterizada pela incapacidade de reter memórias do dia-a-dia [18].

Capítulo 3

A doença de Alzheimer

A designação desta doença ficou a dever-se ao médico Alois Alzheimer, quando em 1906 identificou alterações *post mortem* no tecido cerebral de uma mulher que, entre outros sintomas, apresentava perda de memória, problemas a nível linguístico e um comportamento inexplicável. A primeira vez que foi reportado um caso com a doença de Alzheimer a esperança média de vida era menor do que a actual, não se verificando tantas ocorrências em pacientes com menos de 65 anos. Hoje em dia, devendo-se em parte aos avanços tecnológicos na medicina, estas ocorrências são cada vez mais comuns: a longevidade aumenta, bem como o risco de contrair a doença.

A doença de Alzheimer é um processo irreversível e degenerativo que lentamente vai afectando a memória, as capacidades cognitivas e mais tarde a realização de simples tarefas. Das doenças neurodegenerativas, a doença de Alzheimer é das mais comuns entre pessoas idosas, embora que, com uma menor probabilidade, esta doença possa surgir entre os 30 e os 60-65 anos.

Actualmente, esta doença é já um caso de maior preocupação ao nível de saúde pública e uma prioridade na investigação [19-22].

3.1 Fisiopatologia da Doença de Alzheimer

3.1.1 Patogénese

Inúmeras pesquisas têm sido feitas de forma a compreender os mecanismos da doença de Alzheimer. No entanto, apesar de todo o progresso que se tem feito neste campo, ainda permanece incerto todo o processo neurobiológico que leva a uma falha cognitiva severa [2].

Das hipóteses que explicam a génese desta doença, aquela que prevalece é a Hipótese da Cascata Amilóide, formulada pela primeira vez em 1992, que defende que a deposição da proteína beta-amiloide – componente principal das placas amilóides – é o evento patológico inicial da doença de Alzheimer e que a formação de tranças neurofibrilares, perda celular, danos vasculares e consequente demência são o resultado directo dessa deposição [23, 24].

3.1.2 Neuropatologia

O diagnóstico provisório da doença de Alzheimer é feito com base em três características clínicas específicas: as tranças neurofibrilares, vistas como agregados de filamentos intraneuronais de microtúbulos, aos quais está associada a proteína tau; depósitos extracelulares, constituídos pela proteína beta-amiloide, conhecidos como placas senis ou placas amilóides; e, por fim, uma perda difusa de neurónios. As placas e as tranças estão presentes principalmente nas regiões que envolvem a aprendizagem, a memória e os comportamentos emocionais, estando por isso associadas a zonas do cérebro como a região entorrinal, o hipocampo, o prosencéfalo basal e a amígdala [14, 24, 25]. Relativamente à perda neuronal, existem grandes evidências que sugerem que as perdas sinápticas e as dendrites, especializadas em enviar e receber sinais provenientes dos neurónios, têm uma melhor correlação com o declínio cognitivo na doença de Alzheimer do que a perda de neurónios. Só assim poderiam ser explicadas as variações nas funções neurológicas experimentadas pelos doentes, portadores desta doença, durante o mesmo dia [26, 27]

Por outro lado, a única forma comprovada para se obter um diagnóstico definitivo da doença de Alzheimer implica uma presença considerável de placas e de tranças após a morte do paciente [6, 14, 25].

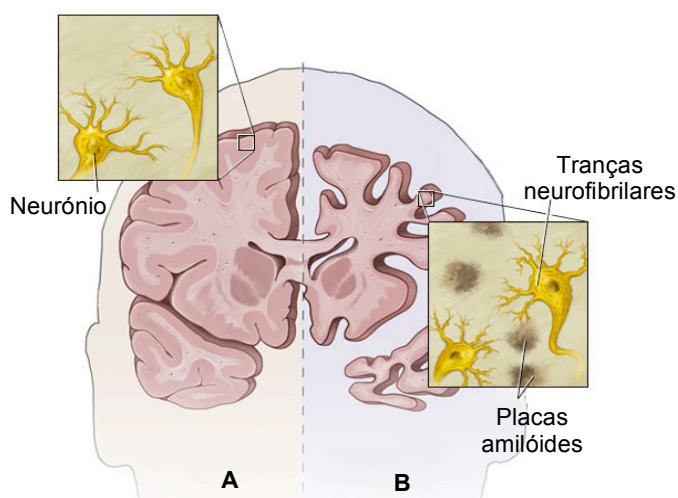


Figura 3.1 – Cérebro dividido em duas secções, com representações macroscópicas e microscópicas. A: Cérebro normal. B: Cérebro com a doença de Alzheimer. Adaptado de [28].

3.2 Sintomas

É inegável a complexidade em torno da doença de Alzheimer, mas, apesar de tudo têm-se conseguido detectar várias alterações relacionadas com a sua progressão. Normalmente esta, segue um típico padrão clínico que reflecte a sua expansão e o grau de severidade.

Estima-se que esta doença começa muito tempo antes de apresentar quaisquer sinais ou sintomas. No entanto, a região entorrinal junto do hipocampo, é a que os cientistas julgam estar na origem de todo o processo. As regiões afectadas começam a atrofiar e os ventrículos – espaços preenchidos por fluidos no cérebro – aumentam de tamanho. À medida que a degradação do cérebro avança, acabam por ser revelados os primeiros sinais da doença.

O estado pré-clínico da doença continua a ser imperceptível, não existindo sintomas ou sinais válidos que permitam um diagnóstico precoce antes da manifestação de qualquer processo irreversível.

O estado que apresenta um ligeiro défice cognitivo, *MCI*¹, tem-lhe associado duas características que revelam um comprometimento significativo: a aprendizagem e a memória. Quanto às estruturas cerebrais, durante esta fase verifica-se um aumento da atrofia do córtex cerebral (Figura 3.2 B) sendo a doença de Alzheimer normalmente diagnosticada durante esta fase.

Num estado mais moderado da doença, as zonas afectadas continuam a diminuir, os ventrículos continuam a aumentar de tamanho e desta forma os sintomas da doença tornam-se mais evidentes.

No estado mais severo da doença as funções cognitivas encontram-se já bastante enfraquecidas. A atrofia das estruturas é cada vez mais evidente e os ventrículos encontram-se ainda mais ampliados [29, 30] (Figura 3.2 C).

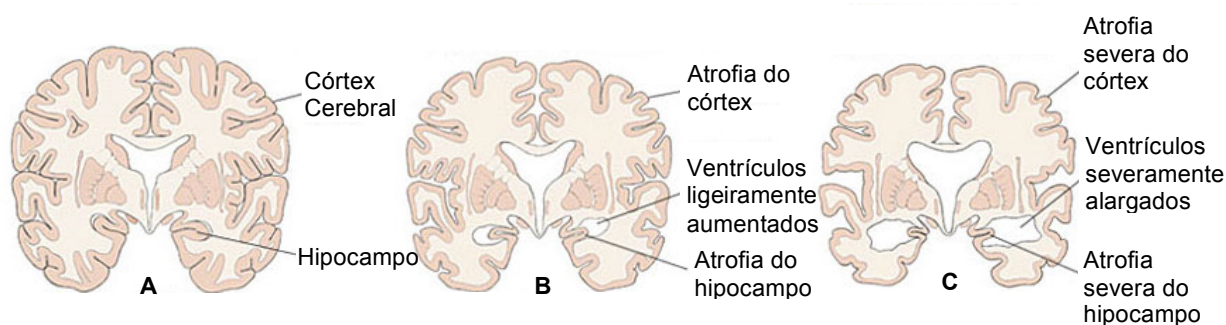


Figura 3.2 – Progressão da doença de Alzheimer. A: Cérebro Saudável. B: Cérebro que apresenta um ligeiro comprometimento cognitivo (*MCI*). C: Cérebro num estado muito severo. Adaptado de [31].

¹ Do inglês *Mild Cognitive Impairment*

3.3 Diagnóstico

A doença de Alzheimer só pode ser diagnosticada definitivamente *post mortem*, recorrendo a um exame histopatológico. No entanto, com alguns aperfeiçoamentos de técnicas e critérios, actualmente é possível proceder-se a um diagnóstico mais antecipado [19, 32] .

O diagnóstico desta doença é estabelecido, na maior parte dos casos, através de exames clínicos e avaliações neurofisiológicas [33].

Ultimamente, tem vindo a aumentar a possibilidade de se identificar *in vivo* evidências relativas à neuropatologia da DA com recurso marcadores específicos e validados [32]. Técnicas quantitativas inovadoras como a obtenção tridimensional da imagem do volume do hipocampo e a espessura cortical são marcadores promissores na detecção da doença de Alzheimer [19]. A volumetria em Ressonância Magnética pode distinguir pacientes com DA de controlos com bastante acuidade e especificidade (80%). Através de estudos, foi referido que o volume do hipocampo é reduzido em cerca de 10% nos estados iniciais da doença, de 20% a 30% com *MCI* e mais do que 30% num estado mais avançado da doença. Para além disso, através das medições pode-se prever quais os pacientes com *MCI* desenvolverão a DA [33].

3.4 Tratamento

Apesar da elevada incidência de casos com Alzheimer e de se salientar a importância de uma detecção e tratamento precoces, muitos pacientes continuam a ser diagnosticados já no estado moderado da doença. Isto deve-se muito, em parte, à falta de conhecimento e de atenção relativamente à DA, uma vez que o declínio cognitivo continua a ser visto como parte do processo normal de envelhecimento [20].

Hoje em dia estão disponíveis opções de tratamento que visam atenuar os sinais da doença de Alzheimer e que trazem benefícios aos pacientes e às suas famílias. Estes tratamentos são seguros e em vários estudos contribuíram para uma moderada melhoria dos sintomas, no entanto não existe nenhum capaz de travar a deterioração progressiva das funções cognitivas [20, 34, 35] (Figura 3.3).

Actualmente não existe nenhuma cura para a doença de Alzheimer [20].

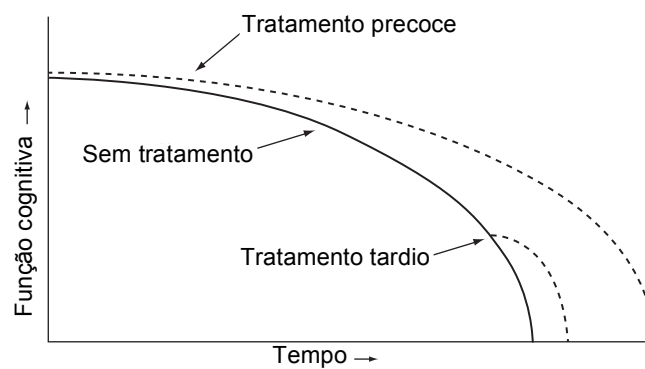


Figura 3.3 – Efeito previsto perante um tratamento tardio face a uma intervenção precoce na doença de Alzheimer. As terapêuticas existentes apenas atenuam a curva do declínio cognitivo fazendo com que esta não seja tão acentuada. Adaptado de [20].

Imagem por Ressonância Magnética

Nos últimos trinta anos, a Imagem por Ressonância Magnética (IRM) tem sido cada vez mais utilizada como uma técnica de imagem de radiação não ionizante com elevada sensibilidade em diferenciar tecidos. Desta forma, a sua escolha torna-se preferencial face a outras técnicas de diagnóstico [36, 37].

Baseada na Ressonância Magnética Nuclear (RMN), fenómeno este observado para protões em 1946 por *Bloch e Purcell*, a IRM foi apenas desenvolvida em 1973 por *Lauterbur and Mansfield*.

A Imagem por Ressonância Magnética é baseada na mecânica quântica e utiliza tecnologias avançadas para a criação de fortes gradientes de campo magnético para a excitação e detecção de radiofrequências [36].

4.1 Fundamentos Gerais

De todos os isótopos nucleares que dão sinal de ressonância magnética – ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na e ^{31}P – o hidrogénio é o elemento preferencial para a aquisição de imagens, não só devido à sua abundância por todo o corpo, mas também por transmitir o maior sinal de IRM [38, 39].

4.1.1 *Spin* Nuclear

O átomo de hidrogénio possui no seu núcleo um único protão que possui uma propriedade intrínseca designada por *spin* nuclear que dá origem a um momento magnético e a um momento

angular, sendo estas as principais características que contribuem para o sinal de ressonância magnética.

4.1.2 Precessão

Na presença de um campo magnético externo (B_0) os prótons possuem um movimento designado de precessão. Os *spins* precessam em torno de um eixo paralelo ao campo B_0 a uma frequência angular ω_0 . A equação de *Larmor* descreve a dependência existente entre a frequência angular e o campo magnético e é dada por:

$$\omega_0 = \gamma_0 \cdot B_0$$

em que, ω_0 é a frequência de *Larmor*, γ_0 , a razão giromagnética, única para cada elemento, e B_0 , a intensidade do campo magnético.

4.1.3 Magnetização

A magnetização total é dada por um vector representado por M e é descrito por duas componentes, a longitudinal, M_z , que é paralela ao campo magnético e a transversal, M_{xy} , perpendicular ao campo magnético.

Na ausência de um campo magnético, a orientação dos *spins* é aleatória e os seus momentos magnéticos tendem a anular-se, fazendo com que a magnetização total seja praticamente nula, uma vez que esta é a soma de todos os momentos magnéticos.

Perante um forte campo magnético externo existem dois estados que os *spins* podem adoptar, um paralelo ao campo magnético e outro antiparalelo. Os prótons que se encontram alinhados paralelamente ao campo encontram-se num estado de menor energia, enquanto os prótons no estado antiparalelo possuem um nível de energia mais elevado. No nível de energia mais baixo encontrar-se-ão sempre mais prótons. Assim, a magnetização total deixa de ser nula, passando a ter componente longitudinal, M_z .

4.1.4 Ressonância

Os *spins* possuem a sua frequência própria, ω_0 e quando se aplica um estímulo externo com esta mesma frequência, os prótons entram em ressonância absorvendo a energia e transitando para um estado mais elevado de energia.

4.2 A origem do sinal

A energia é fornecida ao sistema através de um pulso de radiofrequência, no entanto antes deste ser aplicado, os prótons precessam desfasadamente contribuindo para que a componente transversal da magnetização seja nula. Uma vez absorvido o pulso de radiofrequência, os *spins* são forçados a precessarem em fase, contribuindo para que o vector magnetização seja desviado do eixo longitudinal, posição de equilíbrio, através de um ângulo que estará dependente da intensidade e da duração do pulso incidente. Produz-se desta forma, uma componente finita no plano transversal. Todo este processo é fundamental, uma vez que a precessão em fase é a origem do sinal de IRM [38-40].

4.3 Processos de relaxação

A relaxação é o processo em que os prótons libertam a energia que absorveram do pulso de RF. Este processo é fundamental em ressonância magnética pois fornece o mecanismo primário para o contraste de imagem dos diferentes tecidos [40].

Após a aplicação de um pulso de excitação, o sinal de ressonância não perdura indefinidamente, decaindo ao longo do tempo, isto porque, assim que o pulso é desligado, os prótons regressam à sua posição de equilíbrio, voltando a precessar desfasadamente. Macroscopicamente a magnetização transversal diminui e, conseqüentemente, o sinal de ressonância magnética é reduzido [39-41]. Este desaparece rapidamente devido a dois processos independentes que contribuem para a diminuição da M_{xy} e acabam por restituir o equilíbrio do sistema antes da excitação: interacção *spin-rede* e interacção *spin-spin*. Estes dois processos dão origem a dois tempos de relaxação, T_1 e T_2 respectivamente [42].

4.3.1 Relaxação longitudinal – T_1

A energia adquirida pelos *spins* durante a excitação deve ser libertada para o tecido local. Este fenómeno é conhecido como a relaxação longitudinal ou relaxação *spin-rede*. Este último termo fica a dever-se ao crescimento exponencial de M_z que irá depender das características da interacção dos *spins* com o meio envolvente (arranjos e estruturas moleculares). A constante de relaxação T_1 é o tempo necessário para recuperar 63% da magnetização longitudinal após um pulso de 90° [37, 41].

4.3.2 Relaxação transversal – T2

Após a aplicação do pulso de 90° e de toda magnetização passar a existir apenas no plano transversal, verifica-se que os *spins* vão perdendo, gradualmente, a coerência existente entre eles até ficarem desfasados. Este fenómeno designa-se por relaxação transversal [41].

Existem duas causas que estão na origem deste fenómeno, uma intrínseca e outra extrínseca. Na primeira, os *spins* deixam de estar em fase devido aos efeitos de uns sobre os outros, interacção *spin-spin*, o que contribui para o decaimento da M_{xy} . Este processo é caracterizado por uma constante de tempo, T_2 , inferior a T_1 [39, 41]. O tempo de relaxação T_2 descreve o tempo necessário para que M_{xy} decaia 37% do seu valor máximo [40].

Contrariamente ao que acontece nas causas intrínsecas, nas extrínsecas, como sugere o nome, os efeitos nos *spins* advêm do campo magnético externo. Este diz-se ser inhomogéneo pois experimenta variações de um ponto para o outro, o que contribui para que os *spins* que se encontram em localizações espaciais diferentes, possuam frequências de precessão desiguais levando à perda de fase. Combinando os dois efeitos, interacção *spin-spin* e as inhomogeneidades do campo magnético, há uma perda de sinal caracterizada pela constante de tempo T_2^* , que acaba por ser sempre menor que T_2 [41].

4.4 Contraste

O contraste é a diferença relativa das intensidades do sinal de duas regiões adjacentes de uma imagem.

Devido às propriedades dos tempos de relaxação T_1 e T_2 , presentes em IRM, é possível a diferenciação entre vários tecidos do corpo. Um bom contraste entre tecidos depende da selecção das sequências de pulsos mais adequadas. Tendo em conta o conteúdo desta dissertação apenas será tida em conta a sequência de eco de *spin* (SE^2).

A sequência SE geralmente utiliza um pulso de 90° produzindo uma magnetização transversal máxima, seguido de um pulso de 180°, contribuindo para que os *spins* voltem a estar em fase, reaparecendo a magnetização transversal. O tempo que decorre entre um pulso de 90° e o aparecimento do sinal tem a designação de tempo de eco (TE) e o tempo que decorre entre dois pulsos de 90° designa-se por tempo de repetição (TR). As variações destes tempos originam imagens ponderadas em T_1 , T_2 e densidade protónica (Figura 4.1).

Para se obter imagens ponderadas em T_1 utiliza-se TR e TE curtos, imagens ponderadas em T_2 , TR e TE longos e imagens ponderadas em densidade protónica obtêm-se a partir de TR longos e TE curtos.

² Do inglês *spin echo*

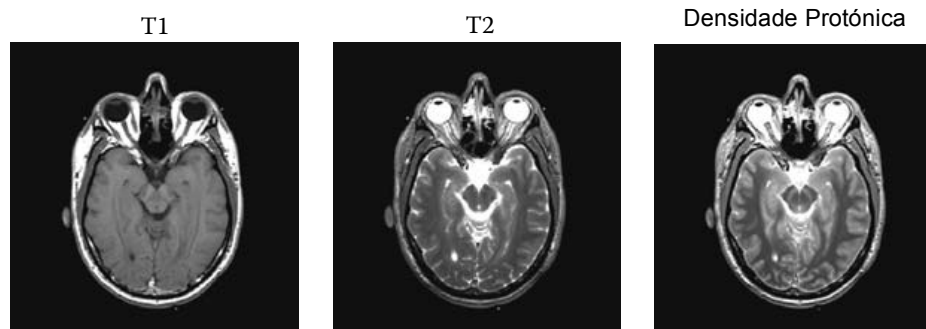


Figura 4.1 - Diferentes mecanismos de contraste foram utilizados para criar imagens de RM ponderadas em *T1* (esquerda), *T2* (meio) e por densidade protónica (direita). Os diferentes resultados na diferenciação de tecidos moles resulta da escolha do método de imagem. Adaptado de [43].

4.5 Volume Parcial

As estruturas cerebrais são bastante complexas a nível morfológico e como tal, um *voxel* pode chegar a ter dois ou mais tipos de tecido no seu interior. O sinal resultante deste *voxel*, será uma média ponderada da contribuição de cada tecido ali presente.

Os erros do volume parcial podem ser atenuados ao diminuir-se o tamanho dos *voxels* mas em contrapartida, a razão sinal-ruído agravar-se-á [44].

Capítulo 5

Metodologia

Este estudo tem como principal objectivo a implementação de medições automáticas do volume do hipocampo, num conjunto de doentes com o protocolo de *Alzheimer*, através dos *softwares* *Freesurfer* e *FSL*. Até à data, as medições têm sido efectuadas manualmente por clínicos, por isso surge a necessidade de se criar um estudo comparativo entre a medição automática e a manual. Todas as metodologias adoptadas para a concretização do objectivo final serão apresentadas, de seguida, neste capítulo.

5.1 Protocolo de Alzheimer

Os participantes deste estudo são doentes inscritos numa Clínica de Memória, a quem tem sido aplicado um protocolo de avaliação, que inclui o historial clínico, exames neurológicos, testes neuropsicológicos, avaliação laboratorial e imagens cerebrais.

O grupo inicial era composto por 61 indivíduos, do qual numa primeira etapa foram excluídos seis e posteriormente quatro elementos, por não apresentarem qualquer classificação. Resulta assim uma amostra de 51 indivíduos classificados em controlo, pré-MCI e MCI.

Para se definirem diferentes grupos recorreu-se a vários critérios. Do grupo de controlo fazem parte indivíduos que não apresentaram queixas a nível cognitivo e cujo desempenho em todos os testes neuropsicológicos efectuados através da BLAD³, se encontrava dentro dos padrões considerados normais. O grupo pré-MCI é constituído por sujeitos que apresentavam queixas

³ Do inglês *Battery of Lisbon for the Assessment of Dementia*

cognitivas e cujo desempenho nos testes neuropsicológicos se apresentava dentro dos padrões normais.

Por fim, o grupo *MCI* é composto por indivíduos que manifestavam queixas ao nível cognitivo e um comprometimento na cognição nos testes neuropsicológicos.

Os 6 indivíduos foram excluídos segundo os seguintes critérios: a) presença de demência; b) resultados através do MMSE⁴ abaixo do valor estabelecido; c) patologias neurológicas ou do foro psiquiátrico que poderão causar um comprometimento cognitivo; d) historial de consumo de substâncias ilícitas e de álcool; e) sintomas de depressão severa e por fim f) resultados anormais nas imagens de RM. No entanto foram permitidas atrofia ao nível do córtex cerebral e alterações na substância branca, ambas relacionadas com alterações ao nível do córtex devido ao processo de envelhecimento [45].

É importante salientar que todos os participantes deram o seu consentimento antes de se efectuar qualquer procedimento, e que o estudo foi aprovado pela comissão de ética local.

5.2 Segmentação manual

As imagens de Ressonância Magnética usadas neste protocolo foram adquiridas na Clínica de Ressonância Magnética de Caselas utilizando um equipamento de 1,5 Tesla *General Electrics*. As medidas volumétricas das estruturas pretendidas provêm de imagens tridimensionais ponderadas em T1 no plano coronal, com uma matriz de alta resolução (512×224) em cortes contíguos com 1,5 mm de espessura.

Numa estação de trabalho *Advantage Windows* da *GE* as segmentações manuais do hipocampo foram realizadas, pelos clínicos, em imagens coronais ampliadas por um factor de dois de acordo com as fronteiras anatómicas reconhecidas. Para a formação do hipocampo, a segmentação começa anteriormente na primeira secção, onde pode ser facilmente diferenciado da amígdala pelo alveus incluindo a fimbria, a circunvolução dentada, corno de *Ammon* e subiculum. As segmentações continuam posteriormente até ao corte antes de aparecer na totalidade o fórnix (Figura 2.3). O bordo médio foi definido como o bordo médio do lobo temporal na junção com a cisterna *ambiens*. O bordo lateral foi determinado pelo corno temporal do ventrículo lateral e pela ausência da junção entre a matéria branca e a matéria cinzenta. O bordo inferior é constituído pela matéria branca e cinzenta do úncus do hipocampo. O bordo superior é determinado pelo alveus (Figura 5.1).

Os volumes obtiveram-se multiplicando a área de cada região de interesse pela espessura do corte, somando por fim todos os cortes que continham o volume pretendido [45].

Uma vez que o principal objectivo deste trabalho reside na comparação entre métodos, serão tidas em conta as várias segmentações manuais que se efectuaram.

⁴ Do inglês *Mini Mental State Examination*

Neste processo intervieram 3 clínicos neurorradiologistas. A amostra dos 51 elementos foi repartida entre dois desses clínicos tendo o clínico 1 ficado com 20 pacientes e o clínico 2 com 24. Este estudo é composto por duas fases de medições com um intervalo de cerca de 3 anos e como tal houve o cuidado de se garantir que o médico responsável pelas volumetrias de um grupo de pacientes na primeira fase fosse o mesmo a realizar as medições na segunda fase. Desta forma assegura-se alguma uniformidade entre fases e medições. O clínico 3, por sua vez, ficou com todos os controlos desta amostra.

Para além de se proceder à comparação entre métodos, foi também possível avaliar-se a experiência dos clínicos relativamente às suas segmentações manuais entre fases. Querendo com isto dizer-se que no início do estudo os clínicos encontravam-se numa fase muito incipiente, mas com a prática prospectiva-se que o modo de operar se torne menos conservador face aos limites das estruturas a segmentar.

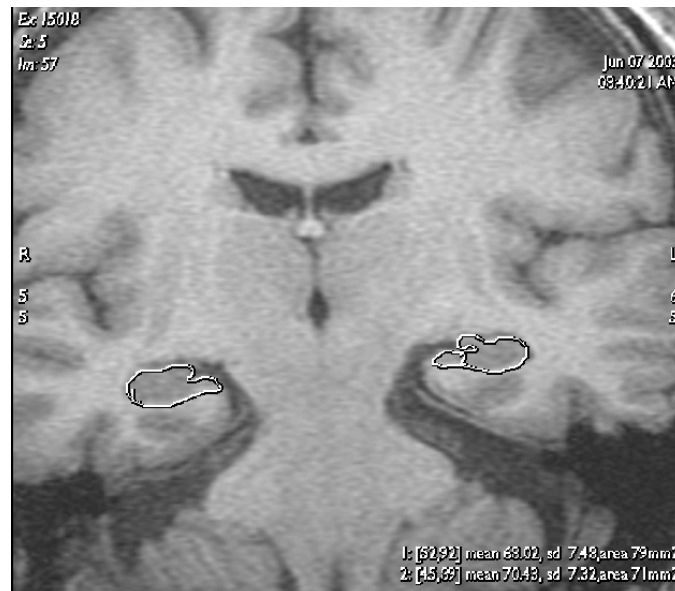


Figura 5.1 – Exemplo de uma imagem de RM com a segmentação manual do hipocampo, esquerdo e direito, efectuada por um médico no plano coronal.

5.3 Segmentação automática

Nas análises quantitativas das imagens médicas é necessário que haja reprodutibilidade, precisão e eficácia nos métodos de segmentação. Em muitos estudos de imagem médica é necessário recorrer-se a uma larga escala de segmentações para a obtenção de resultados significativos, surgindo assim a necessidade de uma segmentação automática [46]. Esta, em relação à manual, é consideravelmente mais rápida e exige menos recursos daí existirem inúmeras vantagens em querer validá-la.

A segmentação automática pode ser feita por vários *softwares* em particular o *Freesurfer* e o *FSL* que foram os estudados neste trabalho. A utilização destes dois *softwares* requer algumas noções básicas do sistema operativo *Unix*.

5.3.1 *Freesurfer*

O *Freesurfer* é um conjunto de ferramentas de *software* utilizadas para o estudo da anatomia cortical e subcortical. No estudo das superfícies do córtex as ferramentas constroem modelos que delimitam a matéria branca da cinzenta e também da superfície da piamáter. Relativamente à análise das regiões subcorticais existe uma abordagem baseada no volume responsável, tal como o nome indica, pelo pré-processamento dos volumes em IRM e pela atribuição de classes a estes tecidos. Esta vertente é constituída por cinco etapas, descritas na íntegra por *Fischl, et al. (2002, 2004b)* [47, 48]. De um modo geral:

1. A primeira consiste num registo de afinidades com o atlas de *Talairach* concebido de forma a ser insensível às patologias e maximizar a precisão da segmentação final. Este atlas é construído a partir de um conjunto de treino composto por indivíduos cujos cérebros foram classificados manualmente;
2. Posteriormente, atribui-se uma classificação volumétrica provisória em que se utiliza um modelo probabilístico que atribui um valor a cada ponto, baseado no conjunto de dados de treino;
3. A variação da intensidade, devido ao campo *bias* B1, é corrigida;
4. É feito um alinhamento volumétrico não-linear de elevadas dimensões ao atlas de *Talairach* de forma a melhorar os resultados anteriores;
5. O conjunto de dados é novamente segmentado de acordo com as novas probabilidades de cada classe. Este processo é repetido até a segmentação não apresentar qualquer variação [49].

O *Freesurfer* disponibiliza uma ferramenta designada por *recon-all* que pode ser utilizada para se obter automaticamente todo o processo de segmentação. Este divide-se em diferentes fases de processamento. Ao todo são 31 fases (Apêndice I) que se dividem em três grandes grupos [50].

Grupos	Fases
-autorecon1	1-5
-autorecon2	6-23
-autorecon3	24-31

Uma vez que o objectivo final está relacionado com a segmentação do hipocampo, utilizaram-se apenas as instruções *-autorecon1* e *-autorecon2*. Como o *Freesurfer* não apresenta nenhuma

interface gráfica, todas as interações utilizador-*software* têm que ser feitas através do terminal com recurso à função *recon-all* (Apêndice II).

Para se dar início ao fluxo de trabalhos utiliza-se o seguinte comando:

- `recon-all -i input -autorecon1 -autorecon2 -s output`

Para cada paciente este processo pode chegar a demorar aproximadamente 20 horas. No final, será devolvido no terminal o volume, em mm^3 , de todas as regiões subcorticais segmentadas e as respectivas classes. Neste caso, apenas irão interessar os valores associados ao hipocampo esquerdo (17) e ao hipocampo direito (53).

É importante referir que o *Freesurfer* trabalha com o formato de imagem *mgz* ao contrário da maior parte das máquinas de ressonância magnética, que utilizam o formato *DICOM*⁵ ou *Nifti*⁶. Existe uma ferramenta incluída no *Freesurfer* responsável por esta conversão, *mri_convert*, no entanto, esta acaba por ser usada automaticamente sempre que se recorre ao *recon-all*.

A segmentação final terá o seguinte aspecto:

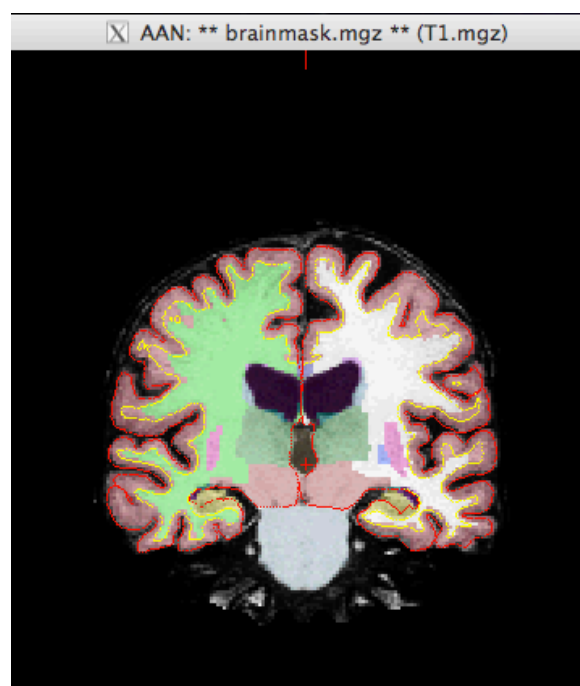


Figura 5.2 – Imagem da *brainmask.mgz* obtida através do *tkmedit* (Apêndice II). A linha vermelha representa a superfície da pia-máter, a linha amarela delimita a matéria branca e as restantes cores representam a segmentação subcortical. Os hipocampos encontram-se a amarelo.

⁵ Do inglês *Digital Imaging and Communications in Medicine*

⁶ Do inglês *Neuroimaging Informatics Technology Initiative*

5.3.2 FSL

O *FSL*, *FMRIB Software Library*, foi desenvolvido por membros do *Analysis Group, FMRIB, Oxford*, e é composto por uma vasta biblioteca de ferramentas que possibilitam o estudo funcional, estrutural e da difusão de dados de IRM [51]. A maior parte das ferramentas tanto podem ser utilizadas através de linhas de comando ou de uma interface gráfica, ao contrário do *Freesurfer*.

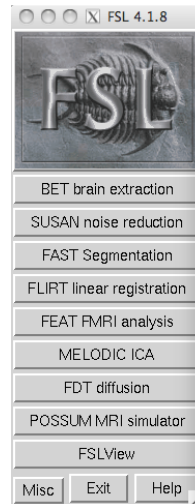


Figura 5.3 – Interface do *FSL*.

Uma vez que o objectivo final passa pela segmentação das regiões subcorticais, mais concretamente do hipocampo, é necessário recorrer-se a uma ferramenta específica do *FSL*, o *FIRST*⁷. As seguintes etapas descrevem o processo da segmentação dessas regiões. Resumidamente:

1. O modelo utilizado por esta ferramenta é construído a partir de imagens ponderadas em T1, manualmente segmentadas conseguindo diferenciar até 15 estruturas subcorticais.
2. Antes de se construir a forma e o modelo de intensidades, todos os dados são registados num espaço de coordenadas padrão (MNI125).
3. É necessário criar uma malha (3D) de parametrizações de todas as imagens manualmente segmentadas mantendo a correspondência de pontos entre malhas.
4. Para cada estrutura e para cada indivíduo existe uma malha que se adapta à imagem binária que representa a segmentação manual para essa estrutura. A malha é criada para a forma mais comum entre os indivíduos do conjunto de treino e de seguida é deformada para se adaptar à imagem binária individual.
5. Uma vez construídos os modelos, a adaptação das estruturas às novas imagens é feita através da optimização de probabilidades baseadas nas intensidades e no modelo [52].

⁷ Do Inglês *FMRIB's Integrated Registration and Segmentation Tool*

Concluindo, o *FIRST* procura através de combinações lineares da forma, modos de variação para a estrutura mais adequada fornecidas pelas intensidades da imagem ponderada em T1 [53].

Para se efectuar a segmentação recorre-se à função *run_first_all* (Apêndice II).

- `run_first_all -i input -s L_Hipp, R_Hipp -o output`

Comparativamente ao *Freesurfer*, este processo de segmentação dura aproximadamente 6 minutos.

Cada estrutura tem um valor associado. O hipocampo esquerdo é rotulado com o número 17, e o hipocampo direito com o número 53.

A figura que se segue mostra o hipocampo após a sua segmentação:

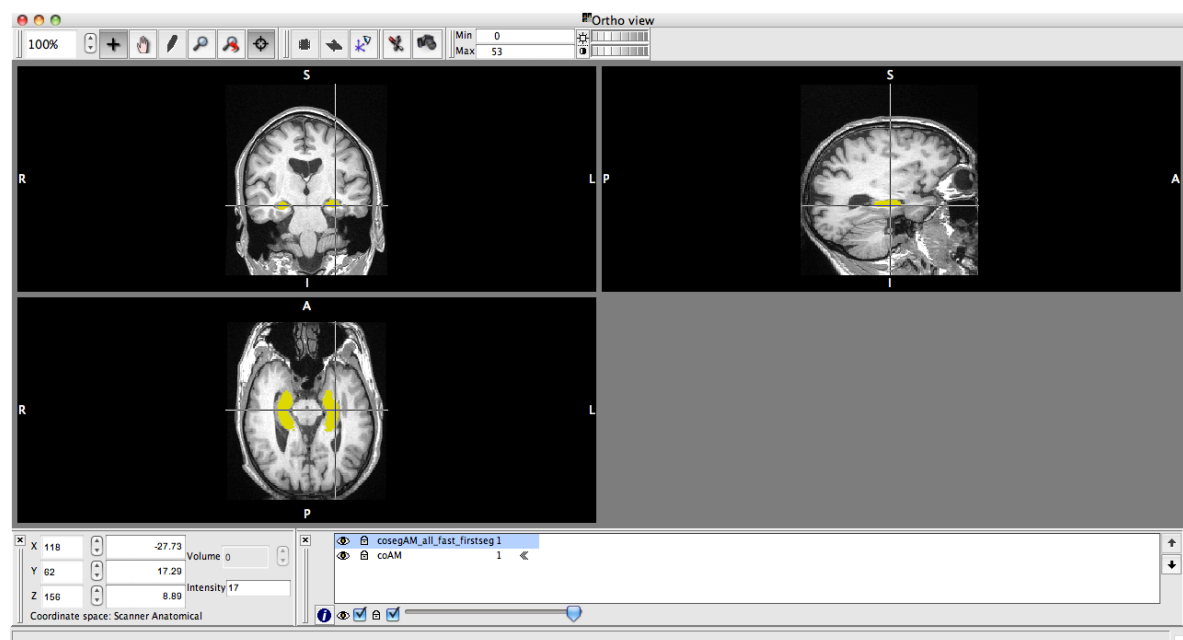


Figura 5.4 – Interface do *FSL*, *fsview*, que mostra as estruturas pretendidas segmentadas nos diferentes planos. Neste caso o hipocampo direito e o esquerdo, a amarelo.

5.4 Comparação entre métodos

Para o clínico 1 e para o clínico 2 adoptou-se a seguinte metodologia:

- Estudo da correlação entre o método manual e o automático, realizado pelo *FSL*;
- Estudo da variação percentual do método automático em relação ao método manual.

Entretanto para o clínico 3 utilizou-se outra metodologia baseada em *Morey et al.* [54], uma vez que se pretendia comparar o método manual com dois métodos automáticos, *FSL* e do *Freesurfer*. A análise comparativa foi efectuada da seguinte forma:

- Estudo da correlação entre o método manual e os automáticos;
- Estudo da concordância entre o método manual e os automáticos a partir do gráfico de *Bland-Altman*.

A análise de *Bland-Altman* é muito usada para se avaliar a concordância entre dois métodos que deveriam medir a mesma quantidade. Para se obter este tipo de análise é preciso calcular a média das diferenças entre os dois métodos e os limites de concordância – estimados através da média das diferenças ± 1.96 desvio padrão das diferenças ($\bar{d} \pm 1.96s_d$). Quanto menor for a banda formada por estes dois limites, melhor será a concordância entre métodos [55-57].

Capítulo 6

Apresentação e Discussão de Resultados

Neste capítulo serão apresentados os resultados conseguidos através do *Freesurfer* e do *FSL* que posteriormente serão comparados com os obtidos pelos clínicos.

A maior parte dos pacientes realizou duas fases de exames, a primeira relativa ao ano 2003/2004 e a segunda relativa a 2007/2008. Estas fases estarão muito presentes ao longo do capítulo, uma vez que demonstram a evolução dos clínicos no que diz respeito às segmentações manuais.

O *FSL*, foi o *software* inicialmente escolhido para efectuar por completo todas as segmentações automáticas para o número total de pacientes. O *Freesurfer* foi posteriormente utilizado para efectuar as volumetrias do grupo de controlo.

6.1 Clínico 1 e *FSL*

Apesar de se querer analisar todos os pacientes nem todos puderam ser contabilizados (Apêndice III).

6.1.1 1ª Fase

A figura que se segue pretende demonstrar a comparação entre as medições manuais e as automáticas.

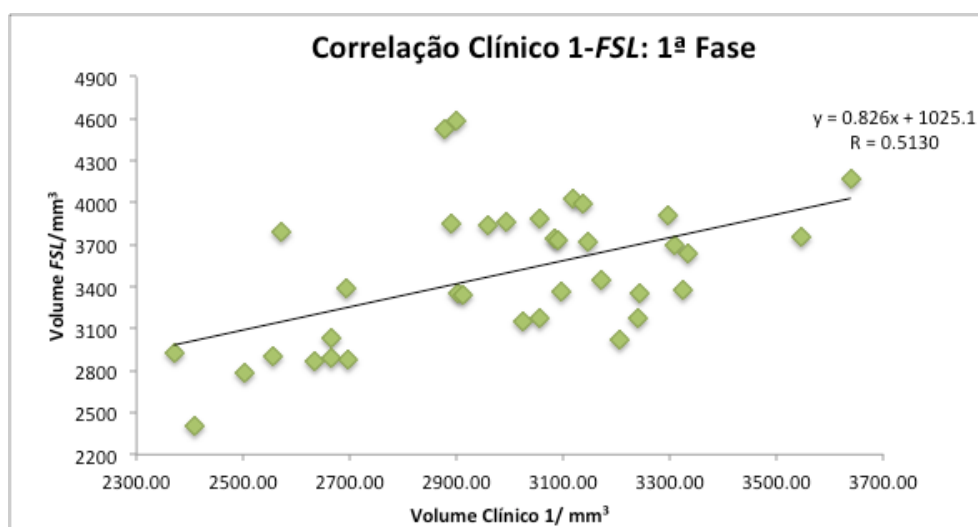


Figura 6.1 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 1 e o FSL.

Através da observação da Figura 6.1 parece possível afirmar que não existe uma boa correlação entre os valores manuais e os automáticos. Esta observação pode ser confirmada através do valor de R (0,5130), uma vez que para haver uma boa correlação o valor de R deveria ser maior que 0.7 [58].

No gráfico da Figura 6.2 pretende-se demonstrar a variação percentual entre o método manual e o FSL em função dos valores obtidos através do método manual.

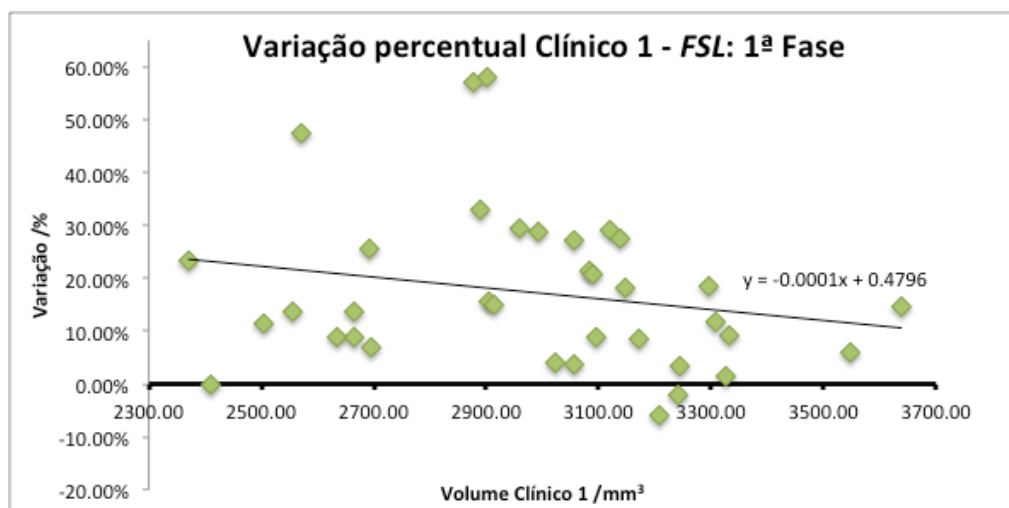


Figura 6.2 – Gráfico que traduz a variação percentual do FSL em relação ao clínico 1.

Este gráfico tem como objectivo verificar a variação percentual do FSL em relação ao clínico 1. O eixo horizontal mais evidenciado traduz 0% de variação, ou seja, qualquer ponto próximo deste eixo mostra que o valor medido automaticamente é concordante com o medido manualmente. Pela análise da figura 6.2, existe uma grande variação entre os valores automáticos e os manuais.

A partir do gráfico é possível verificar que os pontos seguem uma tendência negativa, observação esta que pode ser comprovada através do declive da recta inserida. Para volumes maiores a variação percentual entre métodos diminui.

6.1.2 2ª Fase

Mais uma vez, houve indivíduos que não puderam ser contabilizados (Apêndice III).

Uma vez mais o objectivo, dentro de cada fase, baseia-se na comparação entre os valores medidos pelo médico e os obtidos pelo *software*.

No gráfico que se segue pretende-se comparar o método manual com o automático e perceber o comportamento entre estes dois métodos.

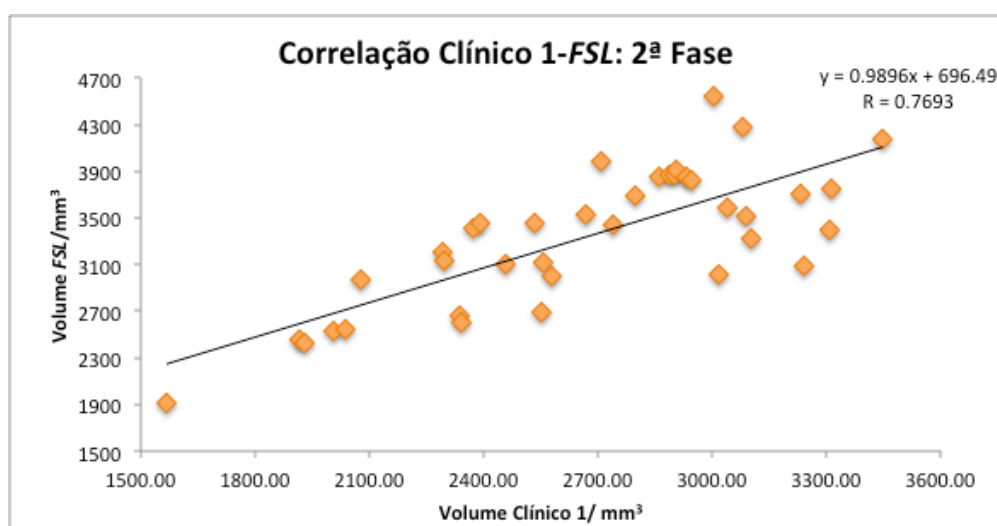


Figura 6.3 – Gráfico que traduz a variação do FSL em relação ao clínico 1, durante a segunda fase de medições.

Pela observação da Figura 6.3 pode-se inferir que a correlação entre medições é positiva e parece ser melhor que a anterior. Esta análise pode ser comprovada através do valor de R (0.7693). Neste caso, este valor já se encontra acima dos 0.7, podendo-se considerar que existe uma boa correlação entre os métodos utilizados.

O gráfico que se segue pretende demonstrar a variação percentual existente entre o método manual e o automático em função dos valores obtidos pelo clínico 1.

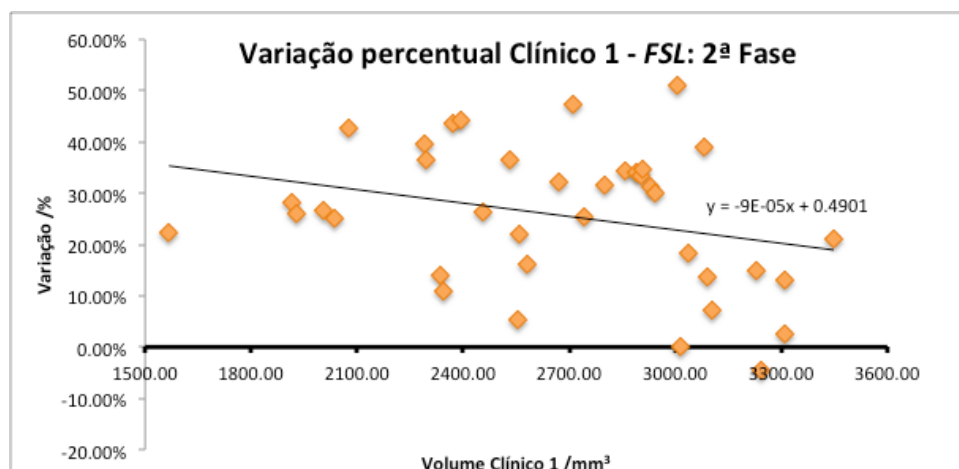


Figura 6.4 – Gráfico que traduz a variação do FSL em relação ao clínico 1, durante a segunda fase de medições.

Como se pode verificar na Figura 6.4, volta-se a obter uma recta com declive negativo indicando que à medida que os volumes aumentam parece haver uma maior concordância entre medições.

6.1.3 Comparação entre fases

Para a comparação entre a primeira fase e a segunda fase contabilizaram-se os pacientes que têm ambas as fases completas – todos os valores manuais e automáticos – para que a média e o desvio padrão, em cada fase, sejam calculados com o mesmo número de medições.

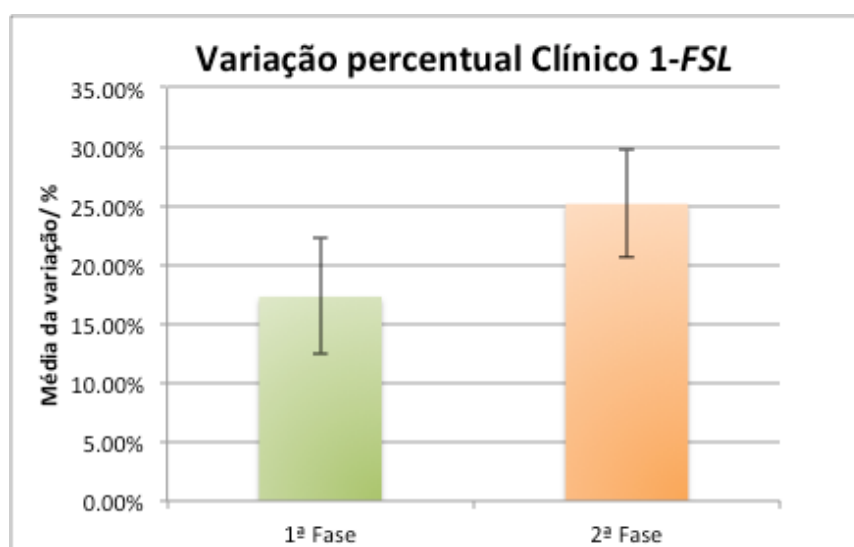


Figura 6.5 – Gráfico de barras que traduz a média da variação entre o clínico 1 e o FSL em ambas as fases.

Na Figura 6.5 é possível verificar que a média da variação entre métodos aumentou da primeira fase para a segunda. Relativamente às barras de erros presentes no gráfico, verifica-se que existe uma maior dispersão da média na primeira fase.

Era esperado que a variação entre métodos fosse menor na segunda fase, uma vez que um médico de uma fase para a outra ganha mais prática reflectindo-se nas considerações a ter aquando da segmentação manual do hipocampo. No entanto, a Figura 6.5 mostra precisamente o contrário. Tendo em conta que o *FSL* utiliza sempre as mesmas considerações para efectuar a segmentação, o único elemento variável ao longo do tempo nesta comparação acaba por ser o clínico 1. Este parece ter-se tornado mais conservador relativamente à segmentação do hipocampo de uma fase para outra.

6.2 Clínico 2 e *FSL*

Para este clínico voltou a não ser possível contabilizar todos os pacientes (Apêndice III).

6.2.1 1ª Fase

A figura que se segue pretende estudar a comparação entre o clínico 2 e o *FSL*.

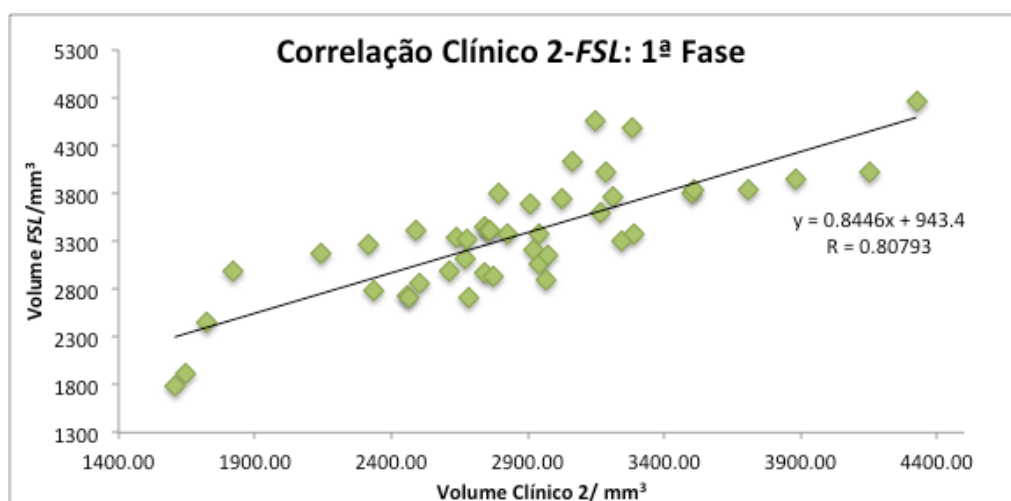


Figura 6.6 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 2 e o *FSL*.

Como se pode verificar pela observação da Figura 6.6, de um modo geral, à medida que o volume medido manualmente aumenta o volume medido automaticamente também aumenta. Como se pode comprovar pelo gráfico o *R* (0.80793) encontra-se acima de 0.7, podendo-se afirmar que existe uma boa correlação entre os valores automáticos e os manuais.

O gráfico que se segue pretende demonstrar a variação percentual existente entre o método manual e o automático em função dos valores obtidos manualmente.

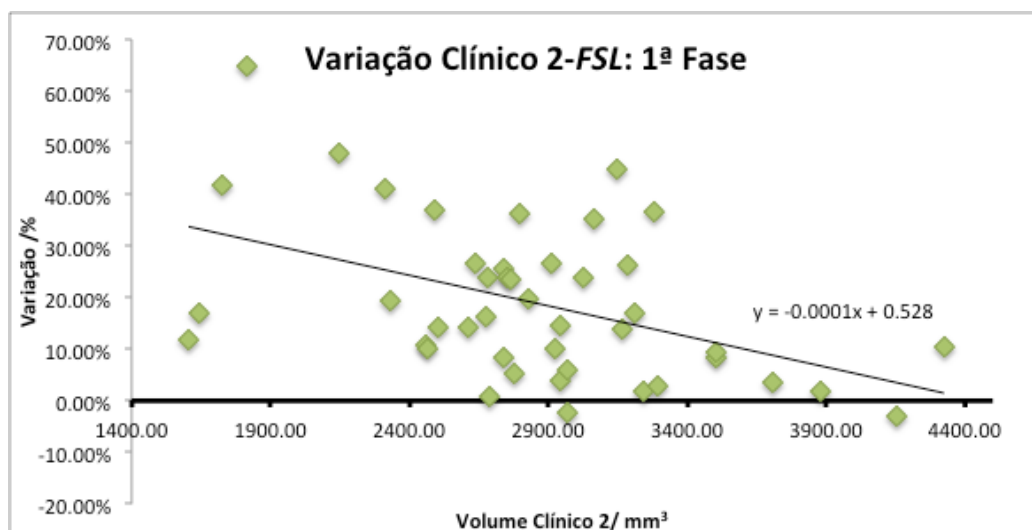


Figura 6.7 – Gráfico que traduz a variação percentual do FSL em relação ao clínico 2.

A Figura 6.7 mostra a variação percentual entre métodos.

Qualquer ponto coincidente com este eixo horizontal traduz uma variação de 0%, o que significa que o valor medido automaticamente é igual ao medido manualmente.

A linha presente na Figura 6.7 tem declive negativo verificando-se que para volumes maiores a coerência entre métodos é maior.

6.2.2 2ª Fase

Com o gráfico que se segue pretende-se comparar o método manual com o automático.

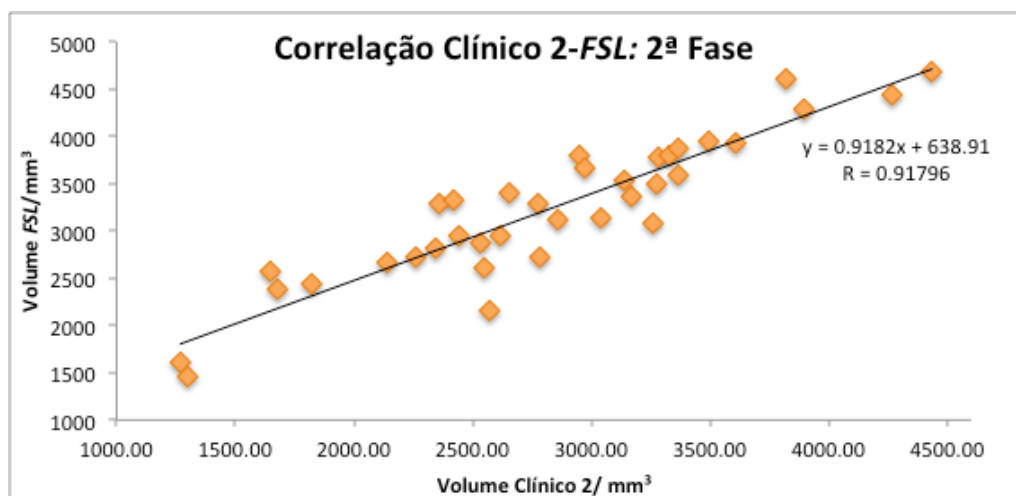


Figura 6.8 – Gráfico que traduz a correlação entre o clínico 2 e o FSL.

Na Figura 6.8 mostra a existência de uma ótima correlação entre métodos. Esta observação pode ser confirmada através do R (0.91796) que possui um valor muito próximo de 1.

Com este gráfico pretende-se demonstrar a variação percentual entre o clínico 2 e o *software* em função dos volumes medidos pelo clínico 2.

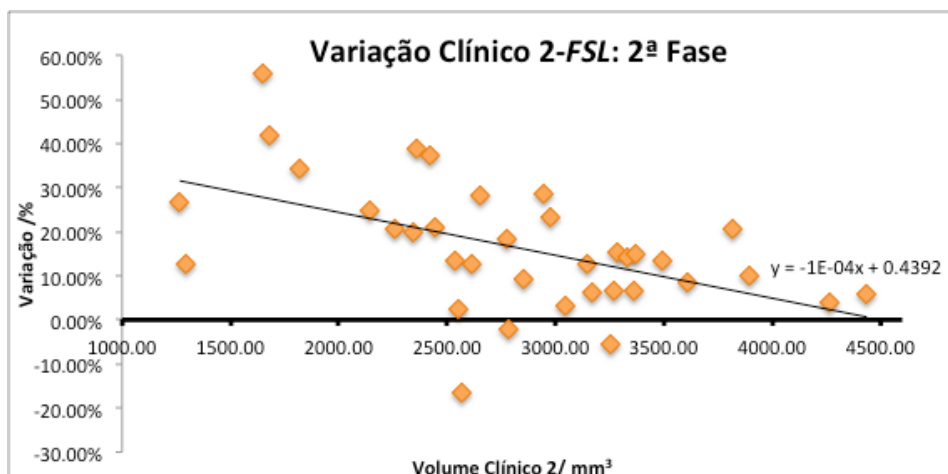


Figura 6.9 – Gráfico que traduz a variação do FSL em relação ao clínico 2.

Observando a Figura 6.9 verifica-se que a variação percentual diminui quando estão a ser medidos volumes maiores.

Através da Figura 6.9 é possível observar variações percentuais negativas que mostram que os valores obtidos automaticamente são inferiores aos valores obtidos pelo método manual.

6.3 Comparação entre fases

Para esta comparação foram contabilizados 16 pacientes (Apêndice III).

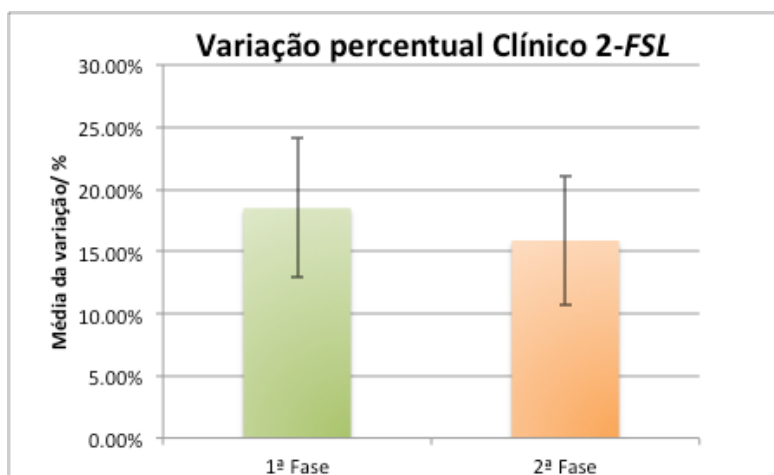


Figura 6.10 – Gráfico de barras que traduz a média da variação entre o clínico 2 e o FSL em ambas as fases.

Observando a Figura 6.10 verifica-se a média da variação percentual entre o clínico 2 e o *FSL* diminuiu da primeira fase para a segunda.

Através da observação das barras de erro existe uma maior dispersão da média na primeira fase.

A Figura 6.10 mostra o que se esperava verificar entre fases. Esta diminuição da média da variação percentual mostra que passou a existir uma maior concordância entre as medições manuais e as automáticas da primeira para a segunda fase. Esta constatação pode estar relacionada com o clínico 2, uma vez que é expectável que ganhe mais prática nas segmentações manuais ao longo do tempo. Em princípio, para um médico que ganha experiência acaba por estar mais familiarizado com as inserções do hipocampo, podendo vir a aumentar a área segmentada e consequentemente o volume. Desta forma, parece que as medições manuais acabam por se aproximar das automáticas, uma vez que se considera que o *FSL* não altera a sua forma de segmentar com o tempo.

6.4 Clínico 3, *FSL* e *Freesurfer*

Nesta parte do trabalho foi utilizado um outro *software*, o *Freesurfer*. Por esse mesmo motivo adoptou-se uma nova abordagem baseada no artigo de *Morey et al.* [54], uma vez que existem inúmeras semelhanças com este subcapítulo.

Tendo em conta que se está a estudar um grupo sem patologia associada – controlos – não foi feita a distinção entre fases para o clínico 3.

O estudo comparativo foi dividido em Manual – *FSL* e Manual – *Freesurfer*.

6.4.1 Correlação: Manual – *FSL* e Manual – *Freesurfer*

Nesta parte do trabalho comparou-se o método manual do clínico 3 com os métodos automáticos efectuado pelo *FSL* e pelo *Freesurfer*.

Dos 19 controlos que existiam na amostra consideraram-se 12 (Apêndice III).

Com o gráfico que se segue pretende-se comparar as medições manuais com as automáticas do *FSL*.

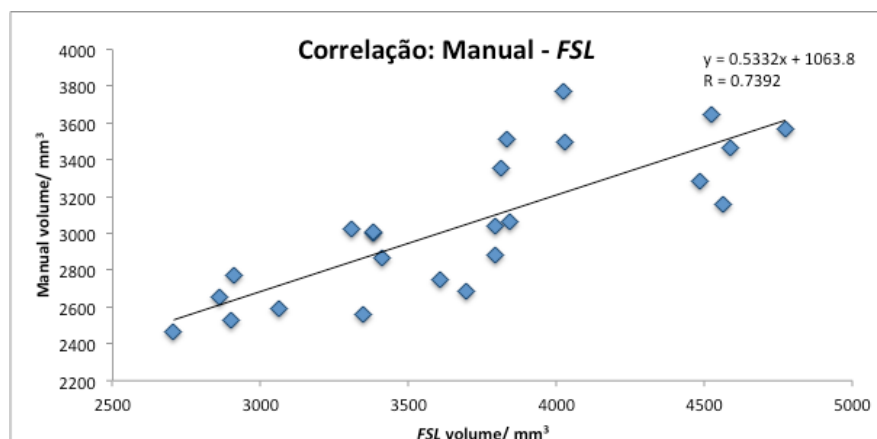


Figura 6.11 – Gráfico que traduz a correlação entre o FSL e o clínico 3.

Através da Figura 6.11 é possível verificar que existe uma boa correlação entre o método manual e o método automático efectuado pelo FSL. Esta associação entre métodos pode ser verificada através do valor de R (0.7392).

O gráfico da Figura 6.12 pretende comparar as medições manuais com as obtidas pelo *Freesurfer*.

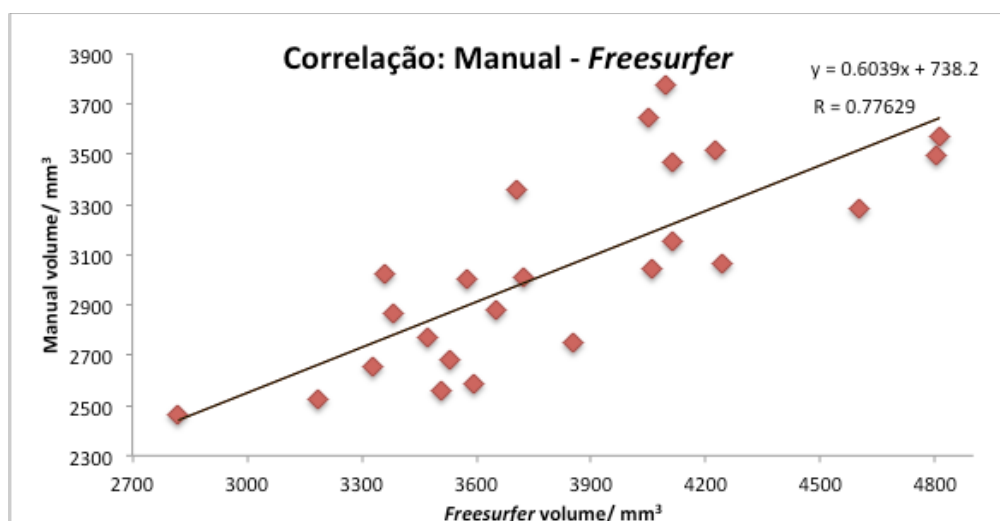


Figura 6.12 – Gráfico que traduz a correlação entre o *Freesurfer* e o clínico 3.

A Figura 6.12 mostra que existe uma boa correlação entre os valores manuais e os valores automáticos, medidos pelo *Freesurfer*. Através do valor de R (0.77629) pode-se comprovar a veracidade da observação, uma vez que o valor é superior a 0.7.

Tendo em conta que a amostra dos pacientes considerados nesta análise, Manual – FSL e Manual – *Freesurfer*, foi a mesma e a segmentação manual também foi efectuada pelo mesmo clínico então pode-se então comparar a Figura 6.11 e a Figura 6.12 através do valor de R. Uma vez que este valor é maior na Figura 6.12, pode-se afirmar que a correlação entre o método Manual – *Freesurfer* é melhor que a correlação entre o método Manual – FSL.

6.4.2 Bland-Altman: Manual – FSL e Manual – Freesurfer

Este gráfico pretende demonstrar se existe concordância de valores entre o método manual e método automático obtido pelo FSL.

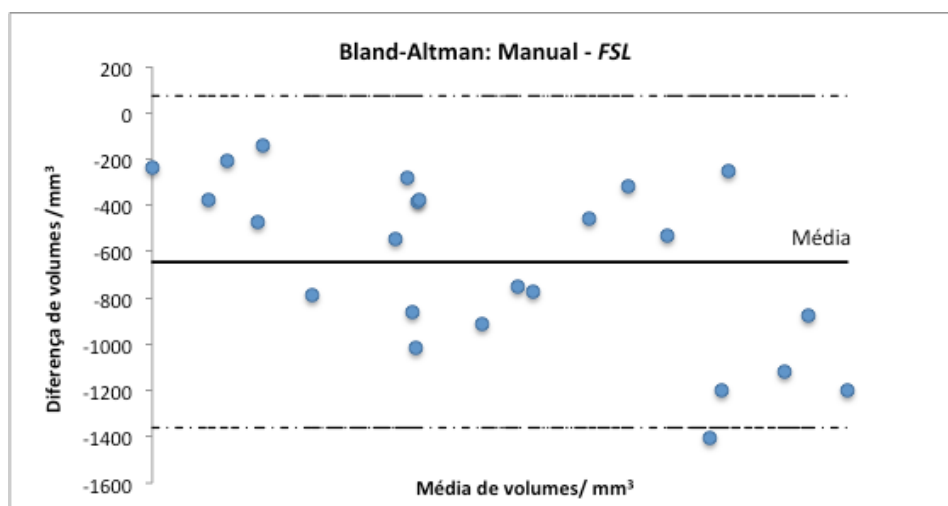


Figura 6.13 – Gráfico *Bland-Altman* que mostra a média da diferença de volumes entre o método manual e o FSL e os limites de concordância representados a tracejado.

Através da Figura 6.13 verifica-se que praticamente todos os pontos se encontram dentro da banda formada pelos limites de concordância. Observa-se a existência de um *outlier* que pode estar relacionado com um erro aleatório associado ao clínico 3.

Este gráfico da Figura 6.14, por sua vez, pretende demonstrar a concordância de valores entre o método manual e o *Freesurfer*.

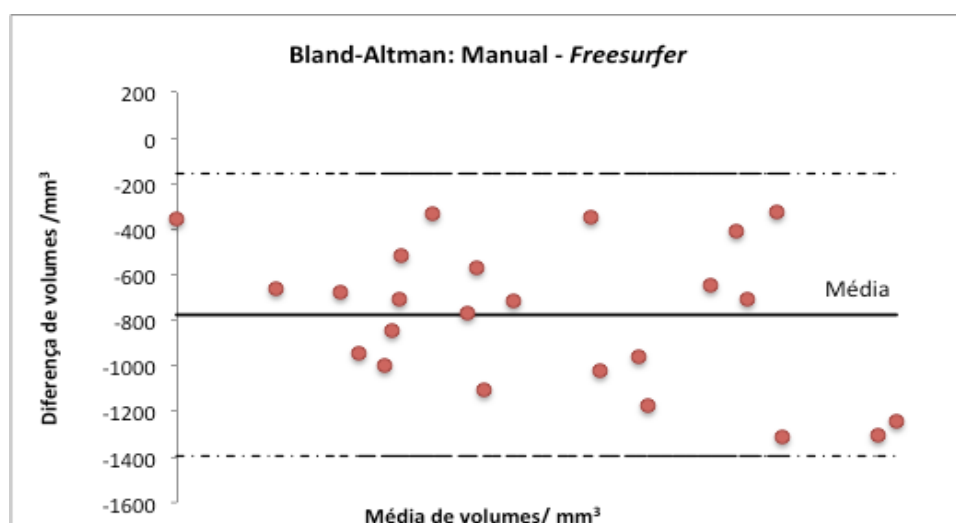


Figura 6.14 - Gráfico *Bland-Altman* que mostra a média da diferença de volumes entre o método manual e o *Freesurfer* e os limites de concordância representados a tracejado.

Pela Figura 6.14 observa-se que todos os pontos se encontram dentro dos limites de concordância no entanto a dispersão continua a ser muito grande.

Analisando as Figuras 6.13 e 6.14 pode-se afirmar que ambos os *softwares* sobrestimam o volume do hipocampo [54] relativamente aos valores medidos pelo método manual – considerando que os valores obtidos através da segmentação manual são os que mais se aproximam da realidade – observação que pode ser comprovada através do valor negativo da média das diferenças. E uma vez que o intervalo entre os limites de concordância é bastante grande os resultados obtidos automaticamente não apresentam grande concordância com os obtidos manualmente.

Baseado em *Morey et al.* [54], esperava-se que a média das diferenças de volumes e o intervalo dos limites de concordância fosse menor na comparação Manual-*Freesurfer*, uma vez que este *software* gera valores mais próximos daqueles que se obtêm através da segmentação manual [54, 59]

6.4.3 Comparação entre medições

O clínico 3 não efectuou a primeira nem a segunda fases de medições para os controlos, uma vez que os indivíduos em estudo, como não têm nenhuma patologia associada, não precisam de ser seguidos ao longo do tempo. Só existe um estudo com *follow-up* quando se pretende fazer comparações entre este grupo e outros com alguma patologia associada. No entanto, o clínico para avaliar a sua prática nas segmentações do hipocampo efectuou, apenas para quatro pacientes, duas repetições com um ano de diferença.

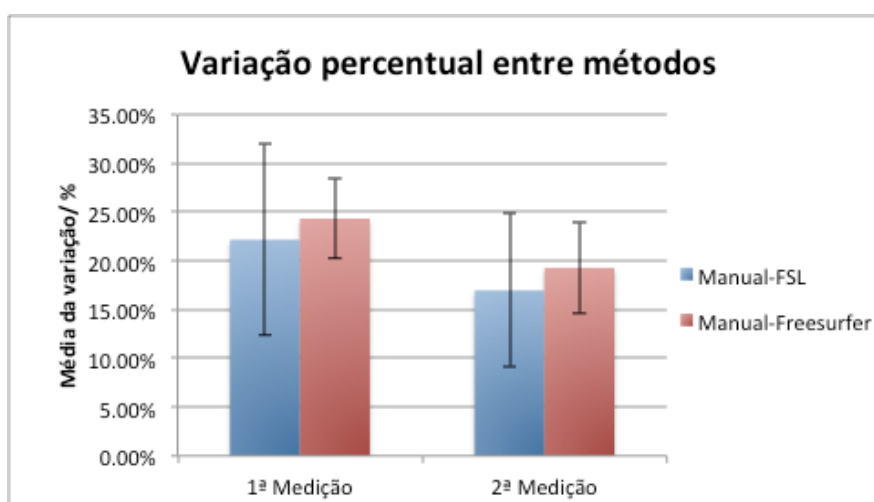


Figura 6.15 – Gráfico de barras que traduz a variação percentual entre métodos de uma medição para a outra.

Como mostra a Figura 6.15, na primeira fase de medições a variação percentual entre Manual-*FSL* é menor relativamente ao Manual-*Freesurfer*, verificando-se o mesmo para a segunda fase de medições. No entanto, verifica-se que da primeira medição para a segunda há uma diminuição da

variação percentual entre todos os métodos apresentados, podendo indicar que o clínico 3, de uma medição para a outra, encontra-se mais familiarizado com o processo de segmentação acabando por incluir mais tecido cerebral à área a segmentar.

Uma vez mais, a Figura 6.15 mostra que contrariamente ao esperado, a variação entre o Manual-*Freesurfer* é maior que a variação entre o Manual-*FSL*.

6.5 *FSL*: Comparação entre grupos

Apesar do objectivo principal desta dissertação não incidir na comparação entre grupos, decidiu-se, mesmo assim, efectuar uma breve comparação entre estes, acompanhados com o respectivo *follow-up* – primeira fase e segunda fase –, uma vez que esta dissertação baseia-se numa amostra que inclui doentes de Alzheimer.

Aproveitando também o facto de se estar a validar o método manual com o automático utilizou-se para cada grupo as medições efectuadas com o *FSL*. Desta forma, verifica-se que o *software* detecta as diferenças volumétricas entre grupos e fases.

Todos os cérebros com o avançar da idade perdem volume, no entanto esta perda pode ser mais notória em indivíduos com patologias associadas. Na doença de Alzheimer foram identificadas regiões no cérebro que estão associadas a esta patologia. Tem-se o caso do hipocampo que, com a patologia de Alzheimer associada, apresenta uma atrofia muito mais evidente relativamente aos controlos [60].

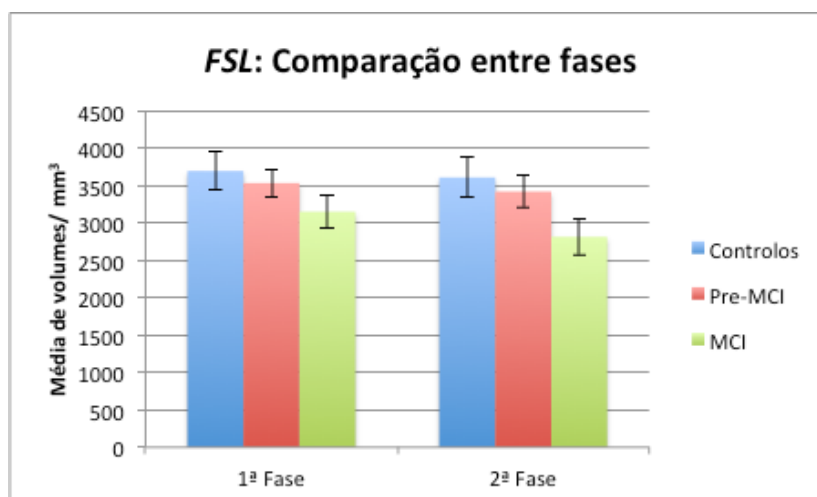


Figura 6.16 – Comparação da média de volumes de cada grupo da primeira fase para a segunda. Comparação da média de volumes entre cada grupo.

Através de uma análise da Figura 6.16 é possível verificar que para cada fase existem variações na média de volumes entre cada grupo.

O grupo de controlo é o que apresenta a menor variação entre fases que pode muito bem estar relacionada com o envelhecimento do cérebro – perda de volume. Observa-se que o grupo classificado como pré-*MCI* mostra uma média de volumes inferior à dos controlos. No entanto, a variação que sofre de uma fase para a outra não parece ser estatisticamente relevante. O único grupo que apresenta variações de volume notórias, tanto entre grupos como entre fases, é o grupo *MCI*.

Desta forma a Figura 6.16 comporta-se de acordo com o esperado e o *FSL* parece conseguir detectar as diferenças esperadas entre grupos e fases.

Capítulo 7

Conclusões

A presente dissertação teve como objectivo a validação da automatização da medição do volume do hipocampo em doentes com a doença Alzheimer. Para alcançar tal propósito recorreu-se à utilização de dois *softwares*, o *FSL* e o *Freesurfer*.

Verificou-se que existe uma boa correlação em praticamente todos os métodos, mas nem sempre se comprovou que eram concordantes. Dos valores calculados pelo *FSL* e pelo *Freesurfer* verifica-se para quase todos os casos que existe uma sobrestimação face aos valores obtidos a partir do método manual, não sendo por isso fiável validar o método automático como um método auxiliar de pré-diagnóstico.

Baseado em *Morey et al.* [54], o *Freesurfer* em detrimento do *FSL* apresenta-se como um substituto mais adequado à segmentação manual do hipocampo. Contrariamente neste estudo, estas verificações não foram comprovadas.

Durante o desenvolvimento da presente dissertação pretendeu-se estudar a evolução das medidas manuais em relação às automáticas ao longo do tempo, para confirmar se a variação entre estas diminui. Este objectivo conseguiu comprovar-se para o clínico 2 e para o clínico 3 cujas medições se aproximaram das automáticas. Desta forma pode-se concluir que, de acordo com o esperado, o médico da primeira para a segunda fase acabou por se tornar mais familiarizado com o método manual expandindo a área segmentada, contribuindo assim para uma diminuição da variação percentual entre métodos.

Por fim, para se enquadrar o estudo no âmbito desta dissertação efectuou-se uma pequena análise descritiva que incluía a média de volumes segmentados pelo *FSL*. Esta análise demonstrou que este *software* detecta variações de volumes no hipocampo: Volume (*Controlos*) > Volume (Pré-MCI) > Volume (MCI).

7.1 Limitações do Estudo

Para se efectuarem comparações é importante existir uma consideração prévia sobre o protocolo a adoptar de forma a serem minimizadas as diferenças existentes entre métodos. Uma vez que neste trabalho foram utilizadas medições automáticas e manuais, as diferenças registadas podem muito bem estar associadas à falta de concordância entre protocolos. No entanto, mesmo que os protocolos seguissem as mesmas directivas existe sempre a subjectividade associada a cada médico responsável pela segmentação. Apesar dos resultados obtidos na comparação Manual-*Freesurfer* não estarem concordantes com os descritos por *Morey et al.* [54], ressalva-se as diferenças existentes entre protocolos.

Para se perceber de uma forma mais sustentada a evolução do clínico 3 relativamente aos *softwares* seria necessário uma amostra de pacientes maior. Ter apenas oito observações – hipocampo direito e hipocampo esquerdo – entre medições é muito limitativo para se poderem tecer conclusões acerca do caso em estudo.

Sempre que se efectuam comparações entre grupos é necessário ter em conta dimensão e a forma da cabeça – braquicéfalos e doliocéfalos. Cérebros maiores terão estruturas maiores, neste caso o hipocampo, o que poderá influenciar os resultados. Atendendo que não se procedeu à normalização das estruturas em estudo, não se pode inferir veementemente que o *FSL* detecte variações de volume entre grupos e fases.

7.2 Perspectivas Futuras

Devido à complexidade inerente ao *FSL* e ao *Freesurfer* existe uma infinidade de parâmetros que podem ser explorados para se poder otimizar as segmentações efectuadas.

É muito comum verificarem-se problemas durante as segmentações automáticas – partes do cérebro que são removidas, outras que são mal segmentadas – e por forma a colmatar estas lacunas seria vantajoso associar-se a um estudo como este, um anatomista ou um neurorradiologista. São especialistas altamente treinados e sábios conhecedores da anatomia do cérebro, por isso mesmo, a detecção de erros nas segmentações automáticas ser-lhes-ia imediata. Na doença de Alzheimer, a diminuição do hipocampo contribui para um aumento dos ventrículos, que são ocupados por LCR [60]. Como estudo futuro seria interessante verificar se o método automático se tornaria mais concordante com o método manual na segmentação do hipocampo, uma vez que as suas delimitações seriam mais facilmente detectadas.

Bibliografia

1. Weiner, M.W., et al., *The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: a review of papers published since its inception*. Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association, 2012. 8(1 Suppl).
2. Fjell, A.M. and K.B. Walhovd, *Neuroimaging Results Impose New Views on Alzheimer's Disease-the Role of Amyloid Revised*. Molecular Neurobiology, 2012. 45(1).
3. Evans, M.C., et al., *Volume changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: cognitive associations*. Eur Radiol, 2010. 20(3): p. 674-82.
4. Selkoe, D.J., *Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy*. Physiol Rev, 2001. 81(2): p. 741-66.
5. Karran, E., M. Mercken, and B. De Strooper, *The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics*. Nature Reviews Drug Discovery, 2011. 10(9).
6. Selkoe, D.J., *Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease*. Nature, 1999. 399(6738).
7. Selkoe, D.J., *Preventing Alzheimer's disease*, in Science. 2012: United States. p. 1488-92.
8. Sanchez-Benavides, G., et al., *Manual validation of FreeSurfer's automated hippocampal segmentation in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer Disease subjects*. Psychiatry Research-Neuroimaging, 2010. 181(3).
9. Shen, L., et al., *Comparison of manual and automated determination of hippocampal volumes in MCI and early AD*. Brain Imaging Behav, 2010. 4(1): p. 86-95.
10. Cherbuin, N., et al., *In Vivo Hippocampal Measurement and Memory: A Comparison of Manual Tracing and Automated Segmentation in a Large Community-Based Sample*. PLoS ONE, 2009. 4(4): p. e5265.

11. Saladin, K.S., *Anatomy & physiology : the unity of form and function*. 3rd ed. 2004, Boston: McGraw-Hill Higher Education. xviii, 1120, 9, 19, 3, 36 p.
12. Pina, J.A.E., *Anatomia Humana da Relação*. 2000: LIDEL.
13. Tortora, G.J. and B. Derrickson, *Principles of anatomy and physiology*. 12th ed. 2010, Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
14. Purves, D., *Neuroscience*. 3rd ed. 2004, Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, Publishers.
15. Ganong, W.F., *Review of Medical Physiology*. 2005: McGraw-Hill.
16. Netter, F.H., et al., *Atlas of Human Anatomy and Gray's Anatomy for Students*. 2006: Elsevier Science Health Science Division.
17. Henke, K., et al., *Human hippocampus associates information in memory*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(10): p. 5884-9.
18. Squire, L., et al., *Fundamental Neuroscience*. 2008: Elsevier Science.
19. Ballard, C., et al., *Alzheimer's disease*. Lancet, 2011. 377(9770): p. 1019-1031.
20. Small, G. and R. Bullock, *Defining optimal treatment with cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease*. Alzheimers & Dementia, 2011. 7(2): p. 177-184.
21. Bekris, L.M., et al., *Genetics of Alzheimer Disease*. Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology, 2010. 23(4): p. 213-227.
22. 11-6423, N.P.N. *Alzheimer's Disease Fact Sheet*. July 2011.
23. Armstrong, R.A., *The pathogenesis of Alzheimer's disease: a reevaluation of the "amyloid cascade hypothesis"*. International journal of Alzheimer's disease, 2011. 2011.
24. Hardy, J.A. and G.A. Higgins, *ALZHEIMERS-DISEASE - THE AMYLOID CASCADE HYPOTHESIS*. Science, 1992. 256(5054).
25. Mattson, M.P., *Pathways towards and away from Alzheimer's disease*. Nature, 2004. 430(7000).
26. Palop, J.J., J. Chin, and L. Mucke, *A network dysfunction perspective on neurodegenerative diseases*. Nature, 2006. 443(7113).
27. Huang, Y. and L. Mucke, *Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies*. Cell, 2012. 148(6).
28. Group, Y.M. *Alzheimer's Disease*. [cited 2012 03/09]; Available from: <http://www.yalemedicalgroup.org/stw/Page.asp?PageID=STW023405>.
29. Forstl, H. and A. Kurz, *Clinical features of Alzheimer's disease*. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 1999. 249(6): p. 288-90.
30. Health, N.I.o. *Alzheimer's Disease: Unraveling the mystery*. 2008 [cited 2012 15/08]; Available from: <http://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/part-2-what-happens-brain-ad/changing-brain-ad>.
31. Foundation, A.H.A. *How the Brain and Nerve Cells Change During Alzheimer's Disease*. 2012 [cited 2012 21/02]; Available from: <http://www.ahaf.org/alzheimers/about/understanding/brain-nerve-cells.html>.

32. Dubois, B., et al., *Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon*. Lancet Neurology, 2010. 9(11).
33. Minati, L., et al., *Current Concepts in Alzheimer's Disease: A Multidisciplinary Review*. American Journal of Alzheimers Disease and Other Dementias, 2009. 24(2): p. 95-121.
34. Klafki, H.W., et al., *Therapeutic approaches to Alzheimer's disease*, in *Brain*. 2006: England. p. 2840-55.
35. Cummings, J.L., et al., *Alzheimer's disease - Etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities*. Neurology, 1998. 51(1).
36. Gossuin, Y., et al., *Physics of magnetic resonance imaging: from spin to pixel*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2010. 43(21).
37. Bushberg, J.T., *The essential physics of medical imaging*. 2nd ed. 2002, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. xvi, 933 p.
38. Prasad, P.V., *Magnetic resonance imaging : methods and biologic applications*. Methods in molecular medicine,. 2006, Totowa, N.J.: Humana Press. xv, 447 p.
39. Pope, J., *Medical Physics:Imaging*. 1999: Heinemann.
40. Brown, M.A. and R.C. Semelka, *MRI : basic principles and applications*. 3rd ed. 2003, Hoboken, N.J.: Wiley-Liss. xiv, 265 p.
41. A., H.S., S.A. W., and M. Gregory, *Functional Magnetic Resonance Imaging*. First ed. 2004, Sunderland: Sinauer Associates.
42. Weishaupt, D., V.D. Köchli, and B. Marincek, *How does MRI work? : an introduction to the physics and function of magnetic resonance imaging*. 2nd ed. 2006, Berlin ; New York: Springer. x, 169 p.
43. Amador Kane, S., *Introduction to physics in modern medicine*. 2nd ed. 2009, Boca Raton: CRC Press. xviii, 422 p., 8 p. of plates.
44. Tofts, P., *Quantitative MRI of the brain : measuring changes caused by disease*. 2003, Chichester, West Sussex ; Hoboken, NJ: Wiley. xvi, 633 p.
45. Nunes, T., et al., *The outcome of elderly patients with cognitive complaints but normal neuropsychological tests*, in *J Alzheimers Dis*. 2010: Netherlands. p. 137-45.
46. Florent, S., *Segmentation of medical images under topological constraints*, 2006, Massachusetts Institute of Technology. p. 1.
47. Fischl, B., et al., *Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain*, in *Neuron*. 2002: United States. p. 341-55.
48. Fischl, B., et al., *Automatically parcellating the human cerebral cortex*. Cereb Cortex, 2004. 14(1): p. 11-22.
49. Imaging, M.C.f.B. *Freesurfer Analysis Pipeline Overview*. 2011 [cited 2012 03-10]; Available from: <http://www.freesurfer.net/fswiki/FreeSurferAnalysisPipelineOverview> - [TheVolume-based.28Subcortical.29Stream](#).
50. Imaging, M.C.f.B. *recon-all*, *FreeSurferWiki*. 2009 [cited 2012 03-03].
51. Jenkinson, M., et al., *FSL*, in *Neuroimage*. 2012, 2011 Elsevier Inc: United States. p. 782-90.

52. Patenaude, B., et al., *A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation*. NeuroImage, 2011. 56(3): p. 907-922.
53. Analysis Group, F. *FIRST*, *FSL*. 2012 [cited 2012 02-10]; Available from: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST>.
54. Morey, R.A., et al., *A comparison of automated segmentation and manual tracing for quantifying hippocampal and amygdala volumes*. NeuroImage, 2009. 45(3): p. 855-866.
55. Martin Bland, J. and D. Altman, *STATISTICAL METHODS FOR ASSESSING AGREEMENT BETWEEN TWO METHODS OF CLINICAL MEASUREMENT*. The Lancet, 1986. 327(8476): p. 307-310.
56. Myles, P.S. and J. Cui, *Using the Bland-Altman method to measure agreement with repeated measures*, in *Br J Anaesth*. 2007: England. p. 309-11.
57. Bland, J.M. and D.G. Altman, *Measuring agreement in method comparison studies*. Stat Methods Med Res, 1999. 8(2): p. 135-60.
58. Taylor, R., *INTERPRETATION OF THE CORRELATION-COEFFICIENT - A BASIC REVIEW*. Journal of Diagnostic Medical Sonography, 1990. 6(1).
59. Pardoe, H.R., et al., *Hippocampal volume assessment in temporal lobe epilepsy: How good is automated segmentation?*, in *Epilepsia*. 2009: United States. p. 2586-92.
60. Driscoll, I., et al., *Longitudinal pattern of regional brain volume change differentiates normal aging from MCI*, in *Neurology*. 2009: United States. p. 1906-13.
61. Imaging, M.C.f.B. *asegstats2table*, *FreeSurferWiki*,. 2009 [cited 2012 30-09]; Available from: <http://www.freesurfer.net/fswiki/asegstats2table>.
62. Analysis Group, F. *Fslutils*, *FSL*. 2012 [cited 2012 02-10]; Available from: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Fslutils>.

Apêndice I

- Etapas do processamento no *Freesurfer* (*recon-all*)

Number	Task
1.	Motion Correction and Conform
2.	NU (Non-Uniform intensity normalization)
3.	Talairach transform computation
4.	Intensity Normalization 1
5.	Skull Strip
6.	EM Register (linear volumetric registration)
7.	CA Intensity Normalization
8.	CA Non-linear Volumetric Registration
9.	Remove Neck
10.	LTA with Skull
11.	CA Label (Volumetric Labeling, ie Aseg) and Statistics
12.	Intensity Normalization 2 (start here for control points)
13.	White matter segmentation
14.	Edit WM With ASeg
15.	Fill (start here for wm edits)
16.	Tessellation (begins per-hemisphere operations)
17.	Smooth1
18.	Inflate1
19.	QSphere
20.	Automatic Topology Fixer
21.	Final Surfs (start here for brain edits for pial surf)
22.	Smooth 2
23.	Inflate2
24.	Spherical Mapping
25.	Spherical Registration
26.	Spherical Registration, Contralateral hemisphere
27.	Map average curvature to subject
28.	Cortical Parcellation – Desikan_Killiany and Christophe (Labeling)
29.	Cortical Parcellation Statistics
30.	Cortical Ribbon Mask
31.	Cortical Parcellation mapping Aseg

- Instruções para o *Freesurfer*

Como tal, para se dar início ao estudo utiliza-se o seguinte comando:

```
recon-all -i input -autorecon1 -autorecon2 -s output
```

em que,

-i input, onde estará indicada a pasta com o nome do paciente e a primeira imagem do conjunto de imagens *DICOM*, por exemplo, *-i \$SUBJECTS_DIR/AAN-04/IM-0001-0001.dcm*;

-s output, terá o nome que se pretende atribuir à pasta que será criada assim que se inicia o processo, por exemplo, *-s AAN*.

\$SUBJECTS_DIR é a variável que indica a directoria em que se está a trabalhar e que contém as pastas dos pacientes antes e após a segmentação. Esta directoria é atribuída da seguinte forma:

```
setenv SUBJECTS_DIR /Users/Utilizador/Alzheimer
```

```
asegstats2table --subjects bert margaret --meas volume --tablefile aseg_stats.txt [61]
```

em que,

--subjects bert margaret, serão os nomes de todas as pastas criadas anteriormente pelo utilizador em *-s output*, por exemplo, *--subjects AAN AI VL OT*;

--meas volume, dando a indicação para que os valores venham em unidades de volume, mm^3 ;

--tablefile aseg_stats.txt, o nome do ficheiro que será criado com todos os valores.

Para finalizar, existe outra ferramenta no *Freesurfer*, conhecida por *tkmedit*, que permite visualizar os volumes obtidos juntamente com as linhas que delimitam as superfícies e a segmentação subcortical.

```
tkmedit good_output brianmask.mgz -aux T1.mgz -surfs -aseg
```

em que,

good_output, terá o nome do paciente, por exemplo *AAN*;

brainmask.mgz, o volume do cérebro sem o crânio usado principalmente para a solução de problemas, que se encontra, neste exemplo, em *\$SUBJECTS_DIR/AAN/mri*;

-aux *T1.mgz*, um volume auxiliar, antes da remoção do crânio, que se encontra igualmente em *\$\$SUBJECTS_DIR/AAN/mri*;

-surfs, providencia todas as superfícies, a original, a que corresponde à matéria branca e à piamáter, tanto para o hemisfério esquerdo como o direito;

-aseg, fornece o volume segmentado automaticamente designado por *aseg.mgz*

Sempre que utiliza o *tkmedit* surge uma pequena interface que permite ao utilizador proceder a alterações de acordo com os seus objectivos (Figura 5.2).

Um utilizador que possua um grande conhecimento anatómico pode, através do *tkmedit*, confirmar se todo o processamento decorreu como o previsto e no caso de existirem alguns erros, o *Freesurfer* disponibiliza formas de os colmatar. No entanto, no âmbito desta dissertação, os conhecimentos anatómicos não são suficientes para se conseguir validar a existência, ou não, de erros.

- Instruções para o FSL

Para se efectuar a segmentação:

```
run_first_all -i input -s L_Hipp, R_Hipp -o output
```

-i *input*, será a imagem que se quer segmentar; É importante referir que antes de se iniciar a segmentação é necessário converter as imagens de formato *DICOM* para *Nifti*. Aquando desta conversão são criados três ficheiros e aquele que tiver o prefixo *co*, será então a imagem a utilizar como *input*.

-s *L_Hipp,R_Hipp*, as estruturas que se pretende segmentar, neste caso o hipocampo esquerdo e direito;

-o *output*, o nome que se quer atribuir ao ficheiro após a segmentação. À medida que esta vai decorrendo vários ficheiros são criados, mas aquele que terá especial importância durante este trabalho será o ficheiro *output_all_fast_firstseg*.

Por fim, recorre-se a outro comando que faz parte do *FSLUTILS*, o *fsstats* [62], que permite calcular o volume:

```
fsstats output_all_fast_firstseg -l 16.5 -u 17.5 -V (Hipocampo esquerdo);
```

```
fsstats output_all_fast_firstseg -l 52.5 -u 53.5 -V (Hipocampo direito)
```

output_all_fast_firstseg, será o ficheiro criado durante a segmentação;

-l, será o limite inferior (-0.5 ao valor da estrutura pretendida);

- u*, o limite superior (+0.5 ao valor da estrutura pretendida);
- V*, devolve no terminal o número de *voxels* e o volume em mm^3 , respectivamente.

No caso do utilizador querer visualizar as estruturas segmentadas de cada paciente pode recorrer a outra ferramenta do *FSL*, o *fsview*. Escrevendo no terminal apenas *fsview* aparece uma interface e no *File>Open* escolhe-se a imagem utilizada anteriormente no *-i input* com o prefixo *co*, por exemplo *coAAN.nii.gz*. Posteriormente, adiciona-se a imagem obtida após a segmentação, *File>Add>cosegAM_all_fast_firstseg.nii.gz*. Alterando nesta última o *Image Type* de *Unknown* para *Mask/Label* e o *Lookup table options* de *Greyscale* para *MGH-Subcortical* obtém-se a Figura 5.4.

Apêndice III

- Tabela de pacientes do clínico 1

Iniciais Pacientes	FSL		Clínico 1		FSL		Clínico 1	
	1ª Fase		1ª Fase		2ª Fase		2ª Fase	
	HD	HE	HD	HE	HD	HE	HD	HE
ARR	3738.216623	2868.09743	3082.50	2634.00	3592.556077	2993.357275	3039.00	2580.00
ACS	3372.009787	3447.814914	3325.50	3172.50	3400.030021	3323.236012	3310.50	3103.50
AVJ	3906.97465	3729.98415	3295.50	3090.00	3870.649907	3826.485476	2902.50	2944.50
CAP	3033.227578	2924.792081	2665.50	2370.00	2545.085815	2432.036808	2037.00	1929.00
EM	4166.734807	3753.752786	3639.00	3546.00	4175.522162	3744.753556	3448.50	3312.00
GMAP	2895.427478	2786.326307	2664.00	2503.50	2964.687127	2537.205281	2077.50	2005.50
IJS	3794.767147	2907.559116	2572.50	2554.50	3449.215937	3201.689786	2392.50	2292.00
JS	3639.925031	3723.309768	3333.00	3147.00	3708.617838	3507.893677	3231.00	3090.00
JAF	4521.450897	4587.515346	2878.50	2901.00	4539.805504	3991.693368	3004.50	2709.00
LMC	3997.456985	3885.418437	3138.00	3055.50	3912.247364	3846.329127	2905.50	2860.50
MB	3352.91748	3171.972656	3244.50	3057.00	3123.194699	2600.794573	2557.50	2343.00
MCS	3148.111609	3383.26019	3024.00	2692.50	3105.767354	3406.686975	2457.00	2373.00
MAM	2881.612274	2406.363792	2695.50	2409.00	2456.755315	1914.91124	1917.00	1567.50
MCL			3204.00	3159.00			2677.50	2404.50
MGR	4025.037115	3833.11259	3118.50	2959.50	3845.680397	3868.751843	2931.00	2889.00
MFA			3781.50	3418.50	4284.937623	3688.717935	3081.00	2800.50
MLA	3020.707702	3173.978283	3207.00	3240.00	2658.798903	2691.098679	2335.50	2553.00
MTN	3367.315318	3357.672566	3096.00	2904.00	3095.481244	3016.709947	3243.00	3016.50
RAL	3694.401205	3343.946802	3307.50	2913.00	3455.08495	3135.712889	2532.00	2295.00
ZVC	3857.07761	3846.298175	2992.50	2890.50	3440.538177	3532.492401	2740.50	2670.00

- Tabela de pacientes do clínico 2

Iniciais Pacientes	FSL		Clínico 2		FSL		Clínico 2	
	1ª Fase		1ª Fase		2ª Fase		2ª Fase	
	HD	HE	HD	HE	HD	HE	HD	HE
AP	3810.741698	3382.601803	2796.00	2827.50				
AMS	3409.829467	2860.187224	2763.00	2505.00	3292.640011	3120.921748	2778.00	2856.00
AAN	3306.409891	3381.885156	3241.50	3292.50	3082.35087	3365.800587	3256.50	3169.50
BPC	4143.171323	3758.219918	3066.00	3211.50	3793.556309	3580.972137	3327.00	3364.50
GRC	3844.062131	3958.101872	3711.00	3880.50	3920.482969	3957.067551	3610.50	3493.50
HMAP	3410.924533	2447.863224	2488.50	1725.00	3281.782096	2378.690508	2361.00	1677.00
JES	3794.638317	3841.111348	3501.00	3505.50	3787.360056	3866.132927	3282.00	3366.00
MFDM			2785.50	2785.50	3666.362841	3540.459334	2976.00	3142.50
MAP			2422.50	2443.50	2811.994441	2670.933304	2344.50	2140.50
MBO	3407.910562	2925.643486	2752.50	2776.50				
MCP	4772.512671	4028.949924	4324.50	4152.00	4688.99004	4438.506282	4437.00	4264.50
MFR	1792.51614	1925.283265	1605.00	1645.50	1459.719404	1606.053885	1297.50	1266.00
MGM	3372.212942	3212.559683	2943.00	2922.00	2611.990129	2875.001879	2548.50	2533.50
MLE	2900.838938	2705.713765	2970.00	2686.50	2719.090971	2147.587487	2781.00	2569.50
MLG	3337.979378	3170.593039	2637.00	2145.00				
MNL	2976.098448	2789.47406	2742.00	2334.00	2943.940469	2728.385491	2613.00	2262.00
MRP	2982.795933	2722.806318	2611.50	2460.00				
MTO	3607.996048	3061.21013	3168.00	2943.00	3488.085963	3143.001771	3271.50	3042.00
MFA	3264.536188	2994.276756	2314.50	1818.00	2443.923996	2567.520961	1818.00	1648.50
OGC	3148.805619	3316.667167	2971.50	2679.00				
PEL	4025.72676	3443.564386	3187.00	2742.00	3791.569139	2955.736443	2947.50	2442.00
RSB	3112.237828	2717.770581	2673.00	2465.50				
SIGP	3741.680117	3687.149277	3024.00	2911.50	3319.562688	3405.583921	2418.00	2652.00
VSM	4562.195757	4484.215251	3145.50	3283.50	4611.613984	4286.638899	3820.50	3892.50

• Tabela de pacientes do clínico 3

Iniciais Pacientes	FSL				Clínico3						Freesurfer	
	1ª Fase		2ª Fase		1ª Medição/1ª Fase		2ª Medição/1ª Fase		2ª Fase		1ª Fase	
	HD	HE	HD	HE	HD	HE	HD	HE	HD	HE	HD	HE
AP	3810.7 41698	3382.601 803					3355 .5	3007.5			3705	3721
AMS	3409.8 29467	2860.187 224	3292.640 011	3120.921 748	2742	2658	2868	2653.5			3382	3331
AM			3193.844 791	3584.383 03					3298. 5	3333		
AAN	3306.4 09891	3381.885 156	3082.350 87	3365.800 587			3025 .5	3001.5			3358	3575
IJS	3794.7 67147	2907.559 116	3449.215 937	3201.689 786	2794.5	2661	2880	2769			3651	3474
JAF	4521.4 50897	4587.515 346	4539.805 504	3991.693 368	3433.5	3165	3642	3468			4049	4113
JES	3794.6 38317	3841.111 348	3787.360 056	3866.132 927			3042	3066			4061	4242
MAM			3408.112 188	3033.315 442					2962. 5	2841		
MCP	4772.5 12671	4028.949 924	4688.990 04	4438.506 282			3570	3496.5			4812	4801
MCP			3503.050 879	3467.769 776					3064. 5	2848 .5		
MGR	4025.0 37115	3833.112 59	3845.680 397	3868.751 843	3547.5	3478 .5	3772 .5	3513			4094	4224
MCD			3310.044 52	3109.555 671					2473. 5	2437 .5		
MGT							3196 .5	2704.5				
MJR			3472.382 68	3407.432 111					2889	2692 .5		
MLE	2900.8 38938	2705.713 765	2719.090 971	2147.587 487			2526	2466			3184	2820
MTO	3607.9 96048	3061.210 13	3488.085 963	3143.001 771			2749 .5	2589			3852	3591
MDR			3564.551 708	3417.485 097					2688	2458 .5		
RAL	3694.4 01205	3343.946 802	3455.084 95	3135.712 889			2682	2559			3530	3507
VSM	4562.1 95757	4484.215 251	4611.613 984	4286.638 899			3156	3286.5			4114	4599